

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL I



TESIS DOCTORAL

**Sistemática de la familia Blechnaceae (Polypodiopsida):
filogenia de Lomaridium y Parablechnum p.p. y aspectos
evolutivos de las pinnas fértiles**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

María Vicent Fernández

DIRECTORES

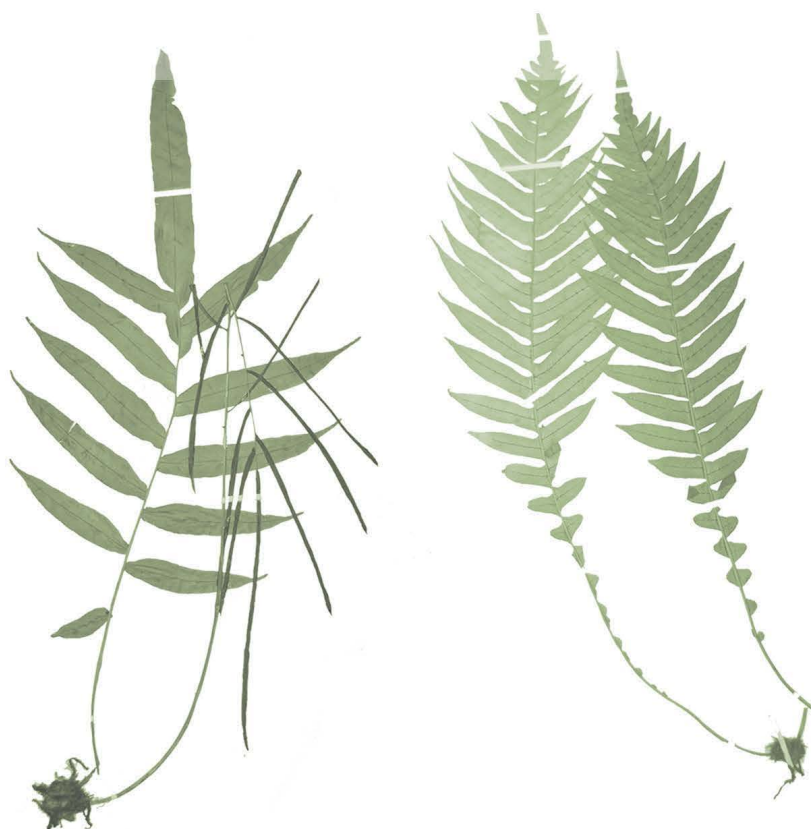
Jose María Gabriel y Galán Moris
Carmen Prada Moral

Madrid, 2018



**Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Ciencias Biológicas**

**Sistemática de la familia Blechnaceae (Polypodiopsida):
filogenia de *Lomaridium* y *Parablechnum* p.p.
y aspectos evolutivos de las pinnas fértiles**



**Tesis Doctoral
María Vicent Fernández**

**Directores
Jose María Gabriel y Galán Moris
Carmen Prada Moral**

2017

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis directores de tesis, Jose María y Carmen, su dedicación, su trabajo, su apoyo, su tiempo, su comprensión y en definitiva el que hayan hecho posible que yo termine satisfactoriamente este doctorado. Agradecer también al departamento de Biología Vegetal I de la facultad de Ciencias Biológicas su cesión de las instalaciones y materiales que he utilizado durante este trabajo.

Quiero agradecer también a mis profesores, fundamentalmente a aquellos de la especialidad de Biología Vegetal, pero en general, a todos aquellos que con su pasión por la Biología han hecho germinar en mí la semilla de la curiosidad científica, y de haberme conducido a ser capaz de disfrutar como disfruto de la Biología y de la Botánica en particular. Aquí incluyo a mis profesores de Biología de El Escorial, a mis profesores de la Universidad Complutense de Madrid, a mis profesores durante mi estancia de Erasmus en la Universität Salzburg, en particular a mi tutor Andreas Tribsch, y a mis profesores del Master EFCE en la Université Rennes I, especialmente a mi tutor Abdelkader Aïnouche.

También quiero agradecer a mis amigas y amigos, por escucharme, por compartir momentos de distensión, por compartir momentos de estrés, incluidas todas esas horas de biblioteca o de salón de casa de alguna para conseguir llegar a tiempo al siguiente examen. Por estar, por continuar estando y por lo que queda.

Agradecer por último a mi familia, a mi madre Pilar por mostrarme desde muy pequeña que la ciencia era un territorio tan para nosotras como cualquier otro, a mi padre Juan por su apoyo constante en los momentos de histeria, de duda, o simplemente de divagación científica, siempre tiene unas palabras preparadas, y a mi hermana Beatriz por haberse convertido estos últimos años en una de mis mejores amigas con la que compartir cualquier momento, cualquier tema, cualquier mirada. Y por último a Luis, por su paciencia, por haber sabido entender lo importante que era para mí llegar a esta meta, por su apoyo y por su amor.

Gracias.

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract	6
Introducción	
• Situación filogenética, Importancia y radiación de los helechos	8
• Familia Blechnaceae	13
• Esquema de clasificación y descripción de los géneros	15
• Avances en un nuevo contexto sistemático	28
• Especies hemiepifíticas. Género <i>Lomaridium</i>	28
• Especies cordatoides. Género <i>Parablechnum</i> p.p.	33
• Evolución de las pinnas fértiles	36
Objetivos	39
Materiales y métodos	
• Material biológico	40
• Extracción de ADN, PCR y secuenciación	40
• Análisis moleculares	41
• Análisis biogeográficos	43
• Procedimientos para la obtención de datos anatómicos	44
• Análisis cladísticos	46
Resultados	
• Especies hemiepifíticas. Género <i>Lomaridium</i>	48
• Especies cordatoides. Género <i>Parablechnum</i> p.p.	51
• Evolución de las pinnas fértiles	
○ Resultados anatómicos	53
○ Análisis cladístico	67
• Apuntes nomenclaturales	79
Discusión	
• Especies hemiepifíticas. Género <i>Lomaridium</i>	80
• Especies cordatoides. Género <i>Parablechnum</i> p.p.	86
• Evolución de las pinnas fértiles	88
Conclusiones	97
Bibliografía	99
Anexos	
• Anexo I. Especies estudiadas en el análisis molecular	113
• Anexo II. Especies estudiadas en el análisis anatómico	116
• Anexo III. Caracteres y sus estados	119
• Anexo IV. Matriz cladística	122

RESUMEN

La familia Blechnaceae es una familia de helechos leptosporangiados (Orden Polypodiales) de tamaño medio, que presenta 24 géneros y alrededor de 250 especies en su concepción actual. Tiene una distribución subcosmopolita, con la mayor parte de su diversidad alojada en el hemisferio austral.

Con el objetivo de cubrir algunas lagunas en el conocimiento de la familia, en este trabajo se estudian tres aspectos desconocidos de la sistemática de ésta: 1) Las relaciones filogenéticas y biogeográficas del género *Lomaridium*; 2) la relación de los integrantes del complejo *Parablechnum cordatum*; 3) la diversidad y evolución de los caracteres anatómicos de las pinnas fértiles de las Blechnaceae en su conjunto.

Para ello se extrajo el ADN genómico y posteriormente se amplificaron con la técnica de PCR las regiones cloroplásticas *rbcL*, *trnL-trnF* y *rps4-trnS* para los géneros *Lomaridium* y *Parablechnum*; se generaron dos bases de datos, una para cada género, y se alinearon las secuencias usando el programa Geneious, para su posterior análisis filogenético con las técnicas de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud usando los programas MEGA y MrBayes. Para el estudio biogeográfico del género *Lomaridium* se realizaron análisis de datación molecular utilizando el software BEAST, a continuación con el programa TreeAnnotator se generó un cronograma de alta credibilidad para usar en los análisis de estimación de la distribución ancestral y posteriormente se estimaron y compararon las distribuciones ancestrales bajo diversos modelos usando el software BioGeoBEARS. Para el estudio evolutivo de las pinnas fértiles se obtuvieron en primer lugar los datos anatómicos de trece especies no estudiadas hasta el momento, 12 Blechnaceae y una Onocleaceae, como grupo externo. Con ese objetivo se realizaron secciones a mano alzada en la parte media de las pinnas, se tiñeron y observaron con microscopio óptico. Se estudiaron también los indusios, los esporangios y las esporas. A continuación se realizó un análisis cladístico de 14 caracteres morfológicos, utilizando los datos anatómicos obtenidos en las especies de nuevo estudio y datos de la bibliografía disponible. Se utilizó el software Mesquite para reconstruir los estados ancestrales por nodos, aplicando modelos de parsimonia de estados no ordenados y cualitativos, obteniéndose un cladograma por carácter estudiado. Finalmente se enfrentaron los cladogramas de los caracteres dos a dos, para analizar posibles fenómenos de co-evolución de los distintos caracteres.

Se obtuvieron dos árboles filogenéticos, uno de inferencia bayesiana y otro de máxima verosimilitud, tanto para el género *Lomaridium* como para el complejo *Parablechnum cordatum*. En el primer caso se determinó la monofilia del género, y a través del estudio biogeográfico, se determinaron 4 clados, que habrían divergido en la historia evolutiva del género, teniendo su centro de dispersión en el centro y sur de América; el primer evento de divergencia implicó la dispersión a Nueva Caledonia del linaje de *L. contiguum*; el segundo generó el clado de *L. schottii*, que se mantuvo en el sur de América y posteriormente se dispersó a las islas de Juan Fernández; el tercer evento de divergencia implicó la dispersión a larga distancia del clado *L. attenuatum* hasta Madagascar y de ahí al continente africano, tras una especiación dentro del clado; y finalmente un cuarto evento de divergencia con *L. binervatum* al Caribe. En el caso del complejo *Parablechnum cordatum*, se obtuvo un árbol altamente resuelto en el que se pudo determinar la independencia de las tres especies del complejo: *Parablechnum chilense*, *P. cordatum* y *P. schiedeanum*.

Se generó una descripción anatómica en detalle de especies no estudiadas hasta el momento en ese aspecto. En el estudio anatómico se detectó una gran cantidad de caracteres diagnósticos de las especies, y en muchos casos de los géneros. En el estudio cladístico de los caracteres morfológicos se comprobó que ciertos caracteres no solo son diagnósticos sino también filogenéticamente significativos, como el tipo de soro, el perfil abaxial de la costa, el tipo de receptáculo y el tipo esporal. Además, el estudio de la diferenciación foliar y de la estructura con función indusial genera nuevas vías de entendimiento de la evolución y sistemática de la familia.

ABSTRACT

The Blechnaceae is a medium-size leptosporangiate fern family (Order Polypodiales), with 24 genera and around 250 species in its current conception. This family has a subcosmopolitan distribution, but with most of the diversity concentrated in the austral hemisphere.

With the objective of cover some gaps in the knowledge of the family, three unknown aspects of its systematics are studied in this work: 1) The phylogenetic and biogeographic relationships in the genus *Lomaridium*; 2) the relationship within the members of the *Parablechnum cordatum* complex; 3) the diversity and evolution of the anatomical characters of the fertile pinnae of the Blechnaceae.

Genomic DNA was extracted and the chloroplastic regions *rbcL*, *trnL-trnF* and *rps4-trnS* were amplified with the PCR technique for the genera *Lomaridium* and *Parablechnum*; two databases were generated, one for each genus, and the sequences were aligned using the software Geneious, after that, they were phylogenetically analyzed with bayesian inference and maximum likelihood with the software MEGA and MrBayes, respectively. For the biogeographic study of the *Lomaridium* genus molecular dating analyses were conducted using BEAST, and TreeAnnotator was used to generate a maximum clade credibility chronogram for use in ancestral range estimation analyses. Finally BioGeoBEARS was used to estimate and compare ancestral ranges under several models. To perform the evolutive study of the fertile pinnae, first the anatomical data of thirteen species were obtained, 12 Blechnaceae and one Onocleaceae, as outgroup. For that purpose, freehand sections were made in the middle portion of the pinnae, coloured and observed under a light microscope. Indusia, sporangia and spores were studied too. Furthermore, a cladistic analysis was performed over 14 morphological characters, using the anatomical data obtained from the studied species and from the available bibliography. Mesquite software was used to reconstruct the ancestral states by nodes, applying parsimony models of unordered and qualitative states, and obtaining a cladogram for each studied character. Finally, the cladograms were confronted by pairs, to analyze possible phenomena of co-evolution of the different characters.

Two phylogenetic trees were obtained, one of bayesian inference and the other of maximum likelihood, for both *Lomaridium* genus and *Parablechnum cordatum*

complex. In the first case, the monophyly of the genus was determined, and through the biogeographical study, four clades were determined, which would have diverged in the evolutive history from the genus, having its dispersion center in the south and center of America; the first divergence event involved the dispersion to New Caledonia of the *L. contiguum* lineage; the second generated the *L. schottii* clade, which remained in southern America and subsequently dispersed to Juan Fernández islands; the third divergence event involved the long distance dispersal of *L. attenuatum* clade to Madagascar, and from there to the African continent, after a speciation event within the clade; and finally, a fourth event of divergence from *L. binervatum* to the Caribbean. In the case of the *Parablechnum cordatum* complex, a highly resolved tree was obtained, in which it was possible to determine the independence between the three species of the complex: *Parablechnum chilense*, *P. cordatum* and *P. schiedeanum*.

A detailed anatomical description of the previously not studied species was generated. In this anatomical study many diagnostic characters at species level were detected, and in many cases, at genus level. In the cladistic study of the morphological characters, not only diagnostic characters were detected, but phylogenetically significant, as the sorus type, the abaxial profile of the costa, the type of receptacle or the spore type. Besides, the study of the leaf differentiation and the structure with indusial function generates new ways to understanding evolution and systematics in the family.

INTRODUCCIÓN

Situación filogenética, importancia y radiación de los helechos

Los helechos son un grupo extremadamente diverso y junto con el grupo de los licófitos, ambos representan los linajes más antiguos de plantas vasculares dentro de las plantas terrestres. A pesar de tener un origen tan antiguo, los helechos cuentan con diez veces más especies (más de 11.000 reconocidas) que las gimnospermas (<1000 especies) [Barker & Wolf, 2010], linaje evolutivamente más moderno que los helechos (Pryer *et al.*, 2004). Esta alta diversidad está relacionada con la capacidad de los helechos de ocupar una gran variedad de nichos ecológicos, habiendo helechos acuáticos, epífitos, xerófitos, etc. (Salvo, 1990; Prada, 2004). Son cosmopolitas, pero están especialmente bien representados en los ecosistemas lluviosos tropicales (Wolf *et al.*, 2015).

En clasificaciones recientes de la flora terrestre, las plantas vasculares presentan una dicotomía basal que separa los ya nombrados licófitos (plantas vasculares que presentan licófilos u hojas con un meristemo intercalar) de los eufilófitos (plantas vasculares que presentan eúfilos u hojas con meristemos marginales o apicales y una ventana foliar asociada a la estela). Esta dicotomía sucede en el Devónico, hace unos 400 millones de años (Stewart & Rothwell, 1993; Kenrick & Crane, 1997; Pryer *et al.*, 2004). Dentro de los eufilófitos, dos importantes clados divergen a partir de un ancestro común, considerado actualmente como perteneciente al extinto grupo de los Trimerófitos (Bateman *et al.*, 1988; Stewart & Rothwell, 1993): los espermatófitos (plantas con semilla, comprendiendo gimnospermas y angiospermas actuales, junto con algún grupo extinto) y los helechos (Cantino *et al.*, 2007). Debido a la ausencia de semillas en los licófitos y los helechos, históricamente han sido tratados conjuntamente, bajo los términos pteridófitos (helechos *sensu lato*) o helechos y aliados, pero actualmente se sabe que, bajo esta denominación, se reúne un grupo parafilético (Smith *et al.*, 2006a).

Los helechos (Clase Polypodiopsida) actualmente comprenden cuatro linajes: los helechos leptosporangiados (Subclase Polypodiidae), los helechos maratioides (Subclase Marattiidae), los ofioglósidos (Subclase Ophioglossidae) y los equisetos (Subclase Equisetidae) [Smith *et al.*, 2006a; Christenhusz *et al.*, 2011; PPG1, 2016]. El grupo de los helechos leptosporangiados, con más de 9.000 especies, es el segundo

linaje de plantas vasculares más exitoso detrás de las angiospermas (Schuettpelz & Pryer, 2008).

Teniendo en cuenta lo explicado hasta el momento, los helechos son el grupo hermano de las plantas con semilla, y justo por ello un buen conocimiento sobre su evolución y filogenia es vital para establecer la dirección de los cambios evolutivos en estudios comparados, como, por ejemplo, a la hora de comparar gimnospermas y angiospermas (Barker & Wolf, 2010; Wolf *et al.*, 2015), o a la hora de realizar una reconstrucción de la historia de las plantas terrestres, debido a su relación con eventos evolutivos tan relevantes como el origen de las plantas vasculares y la divergencia entre plantas con y sin semilla (Taylor *et al.*, 2009a).

Desde un punto de vista biológico y ecológico, los helechos leptosporangiados presentan dos peculiaridades en las que difieren de las plantas con semilla. (1) Los helechos leptosporangiados suelen ser isospóreos, frente a la heterosporia de las plantas con semilla. Es interesante este hecho, dado que la heterosporia ha aparecido varias veces en la historia evolutiva vegetal: en las plantas con semilla, algunos linajes de licófitos (p.ej. Selaginellales, Lepidodendrales-Isoetales), algún helecho (Calamitales s.l., Salviniales) e incluso los pre-vasculares Riniófitos han sido propuestos como heterospóreos (Taylor *et al.*, 2009a). (2) Los helechos cumplen con sus ciclos vitales por medio de dos generaciones independientes: esporófito y gametófito. Esta alternancia de generaciones tiene implicaciones evolutivas importantes, dado que los dos individuos pueden diferir en sus requerimientos ecológicos y experimentar fuerzas selectivas diferentes (Soltis & Soltis, 1990; Page, 2002; Farrar *et al.*, 2008). De esta manera, la adaptación al medio de cada especie se debe tanto a las capacidades de una generación como a las de la otra, por eso, la sensibilidad ecológica de las especies, que puede surgir por ejemplo frente a cambios ambientales, debe ser estudiada en ambas generaciones (Mehltreter *et al.*, 2010). En este sentido, los helechos pueden proporcionar oportunidades únicas en el estudio de los genes asociados con uno de los estadios en el ciclo de vida del helecho (Barker & Wolf, 2010).

Además, los helechos exhiben unas características genéticas remarcables en cuanto a tamaño y estructura. Se ha probado que los helechos son los organismos con los números cromosómicos más altos de todos los organismos vivos estudiados hasta el momento. Mientras que el número cromosómico gamético medio para las angiospermas es de 15.99, la media para los helechos homósporos es de 55.27 (Soltis & Soltis, 1990). Hay algún caso sorprendente en el cual los números cromosómicos gaméticos oscilan

entre 52 y 208 (*Psilotum* Sw.) o entre 104 y 208 (*Tmesipteris* Bernh.). Pero claramente el ejemplo más llamativo se da en *Ophioglossum* L. que presenta un número cromosómico de 1400 (Khandelwal, 1990; Vicent *et al.*, 2014).

Estos números cromosómicos tan altos han sido interpretados de dos maneras diferentes: la primera afirma que estos números cromosómicos son el resultado de repetidos y sucesivos eventos de especiación por poliploidía, seguidos de la extinción del progenitor; mientras que la segunda sugiere que estos números cromosómicos son el resultado de la selección natural para reducir problemas vinculados a la homocigosis cromosómica, en otras palabras, que presentan estos altos números cromosómicos desde hace mucho tiempo (Haufler & Soltis, 1986; Soltis & Soltis, 1990). Asimismo, también se ha probado que estas plantas experimentan evolución reticulada de forma frecuente, mediante hibridación y aloploidización, a lo largo de su diversificación (Haufler, 2008; Dyer *et al.*, 2012), lo cual justifica la necesidad de revisar la sistemática tradicional en la mayoría de las familias de helechos (Barker & Wolf, 2010).

Los helechos aparecieron en el Devónico medio, hace alrededor de 390 millones de años (Scheckler, 1974; Rothwell & Stockey, 2008). A continuación se diversificaron en todos los continentes (Bancroft, 1932; Herbst *et al.*, 1987; Rothwell & Stockey, 1989; Van Konijnenburg-Van Cittert, 1989; Hill & Jordan, 1998; Wang, 1999), experimentando tres radiaciones sucesivas: una inicial en el Carbonífero, que produjo 6 familias, actualmente extintas (Röbner, 2000); una segunda radiación en el Paleozoico tardío y comienzo del Mesozoico, que originó varias familias con representación actual (Tidwell & Ash, 1994); y finalmente, una tercera y última radiación en el comienzo del Cretáceo, fundamentalmente en el clado conocido como polipodioide (Schneider *et al.*, 2004b; Tomescu *et al.*, 2006). La divergencia entre los linajes actuales tuvo lugar principalmente en el Cretáceo y Cenozoico (Taylor *et al.*, 2009b; Vera, 2010).

Schuettpelz & Pryer (2009) centraron su estudio en los helechos epífitos y mostraron que el aumento en la diversificación de los helechos epífitos fue casi 10 millones de años después del origen de las pluvisilvas, pero que, sin embargo, coincide con su expansión. Durante el máximo térmico del Paleoceno / Eoceno, el aumento de las temperaturas y las precipitaciones facilitaron la expansión de los doseles de angiospermas dominantes, y con ello, el número de nichos disponibles en ese hábitat aumentó drásticamente. De esta manera, la hipótesis de una relación entre la

diversificación de los helechos leptosporangiados epifíticos y la expansión de las angiospermas va teniendo cada vez más peso.

Es importante remarcar que parece no haber ningún tipo de relación entre el máximo térmico y la curva de diversificación para los helechos terrestres. Lo cual podría interpretarse como una diferencia en la capacidad adaptativa de los helechos terrestres y los epífitos, siendo los helechos epífitos más sensibles a las condiciones climáticas que los terrestres.

Los datos recientemente presentados se han obtenido usando relojes moleculares, pero hay numerosos artículos que utilizan megafósiles y la dispersión de esporas para evidenciar el origen y diversificación de las plantas terrestres (Knoll & Niklas, 1987; Stewart & Rothwell, 1993; Kenrick & Crane, 1997; Rothwell, 1999; Taylor *et al.*, 2009a).

En los últimos años se han descubierto varios fósiles de plantas cercanas a las Blechnaceae Newman. Pigg & Rothwell (2001) describieron un fósil anatómicamente preservado de *Woodwardia virginica* (L.) J.E.Smith [hoy *Anchistea virginica* (L.) C.Presl] en el cañón Yakima, del estado de Washington, USA, que databa del Mioceno intermedio. También se han descubierto dos especies de las Dennstaedtiaceae Lotsy s.l. (*Microlepiopsis aulenbackii* Serbet & Rothwell y *M. bramanii* Serbet & Rothwell)[Serbet & Rothwell, 2003], el primer registro inequívoco de Blechnaceae del Mesozoico (*Midlandia nishidae* Serbet & Rothwell) y una especie que aparenta tener afinidad a las Dryopteridaceae Herter o las Blechnaceae (*Wessiea oroszii* Serbet & Rothwell) en Canadá (Serbet & Rothwell, 2006). Otra Blechnaceae recientemente descrita es *Trawetsia princetonensis* Smith, Stockey, Nishida & Rothwell, encontrada también en Canadá, Princeton, y que data del Eoceno intermedio (Smith *et al.*, 2006b).

La ciencia lleva dedicado mucho esfuerzo a la clasificación de los organismos vivos. Esta necesidad de clasificar surge del mero hecho de ser humano. Toda clasificación necesita de un criterio para realizarse, y durante muchos siglos ese criterio en la clasificación vegetal fue variable: el tamaño (Teofrasto de Ereso, 300 a.C. clasificaba las plantas en hierbas, arbustos, árboles), el uso que tenían para el ser humano (Dioscórides s. I d.C. clasificaba las plantas en aromáticas, medicinales, alimenticias, venenosas), etc. Había pues, numerosas clasificaciones, hechas con

distintos criterios, para ordenar a los seres vivos, y a las plantas en particular (Talavera, 2004).

De acuerdo con la convención histórica, el concepto de filogenia data de Darwin y del principio de clasificación jerárquica de Linnaeus (Nelson, 1973), entendiendo como filogenia la historia evolutiva de los seres vivos. Es así como las clasificaciones de los organismos comienzan a hacerse desde un criterio evolutivo. Una importante faceta de la sistemática vegetal es la producción de diagramas ramificados representando historias evolutivas hipotéticas. Estos modelos ilustran gráficamente los caminos de la evolución a través de los cuales se cree que se ha modificado un grupo particular de organismos. Los métodos para producir dichos diagramas se discutieron por muchos autores y la cladística se desarrolló como una de las aproximaciones más objetivas y repetibles (Crisci & Stuessy, 1980). Desde la publicación de “El origen de las especies por medio de la selección natural” (Darwin, 1859), el interés de los sistemáticos se centró en el conocimiento de las historias evolutivas de los organismos. Este interés continuó y se intensificó hasta llegar a un momento en el cual, la reconstrucción de una filogenia se veía como parte necesaria e inevitable de toda investigación sistemática por parte de los científicos (Funk & Stuessy, 1978). La aceptación de la teoría de la evolución como el medio para explicar similitudes y diferencias entre los organismos, invita a la construcción de árboles filogenéticos que muestren las relaciones evolutivas de las especies de estudio (Cavalli-Sforza & Edwards, 1967).

Desde la introducción de la secuenciación del ADN y las aproximaciones filogenéticas, la filogenia vegetal ha experimentado grandes avances (Savolainen & Chase, 2003). Las técnicas moleculares han permitido una comprensión de las relaciones entre los distintos taxones más rápida y de más sencilla adquisición, no sólo dentro de las familias y géneros, sino también en niveles jerárquicos más altos (Hasebe *et al.*, 1994; Vicent *et al.*, 2014).

Si bien es cierto que la filogenia molecular ha dado un giro de 180 grados a la hora de realizar estudios filogenéticos, el avance realizado en las distintas ramas del árbol de la vida vegetal ha sido marcadamente diferente. Mucho esfuerzo se ha dedicado a desentrañar el árbol de la vida de los espermatófitos, sin embargo, el conocimiento de la filogenia y la evolución de los helechos es bastante menos extenso. Actualmente se

conocen las ramas principales del árbol filogenético de los helechos, basado en varios marcadores genéticos, predominantemente cloroplásticos, pero también nucleares (Pryer *et al.*, 2004; Schuettpelz & Pryer, 2007; Rai & Graham, 2010; Kuo *et al.*, 2011; Rothfels *et al.*, 2015), e incluso se han realizado algunos estudios combinando datos moleculares con morfología (Pryer *et al.*, 1995; Schneider *et al.*, 2009; Sundue & Rothfels, 2014). Estos análisis han certificado algunos cambios sustanciales sobre alguna concepción previa, como la divergencia, ya comentada anteriormente, entre licófitos y el resto de plantas vasculares.

Los estudios posteriores han comenzado a resolver las relaciones de clados cada vez más terminales, revelando la composición y relaciones de la mayoría de los grupos de helechos actuales (Schuettpelz & Pryer, 2008). Fundamentalmente, este progreso en el conocimiento se ha llevado a cabo mediante técnicas sanger, basadas en pocos marcadores (Murakami *et al.*, 1999; Ebihara *et al.*, 2005; Koenemann *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2012) e incluyendo en ocasiones detalles de la evolución de caracteres morfológicos (Labiak *et al.*, 2010), pero también se han comenzado a realizar recientemente estudios de genómica (Wolf *et al.*, 2003; Gao *et al.*, 2009; Der *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2013; Li & Pryer, 2014).

Profundizando en el árbol filogenético de los helechos, se puede afirmar que las familias de tamaño pequeño y medio han sido más estudiadas, pero todavía queda mucho trabajo y esfuerzo pendiente para desentrañar las relaciones entre géneros y especies de grupos de los que se sabe muy poco debido a su elevada diversidad, lo que es especialmente dramático en algunos grupos por la falta de estudios globales y la existencia de complejos de especies crípticas y poliploides.

Familia Blechnaceae

Uno de los grupos que se ajustaba a la anterior situación es la familia Blechnaceae Newman. La familia Blechnaceae pertenece a los helechos leptosporangiados (Clase Polypodiopsida, Subclase Polypodiidae, Orden Polypodiales), tiene un tamaño medio, y hasta hace poco se reconocían en ella 9 ó 10 géneros y 220-250 especies (Kramer *et al.*, 1990; Cranfill & Kato, 2003; Perrie *et al.*, 2014; PPG1, 2016). Tiene una distribución subcosmopolita, pero la mayor parte de la diversidad de la

familia reside en el hemisferio austral, más específicamente en ecosistemas tropicales y subtropicales (Christenhusz *et al.*, 2011; Rothfels *et al.*, 2012). Blechnaceae se considera una familia monofilética en las clasificaciones más recientes y aceptadas (Smith *et al.*, 2006a; Kuo *et al.*, 2011) y es el clado hermano de la familia Onocleaceae Pic.Serm. (Schuettpelz & Pryer, 2007; Christenhusz *et al.*, 2011; Rothfels *et al.*, 2012). A su vez, Blechnaceae y Onocleaceae son cercanas a las Athyriaceae Alston, Aspleniaceae Newman, Thelypteridaceae Ching ex Pic.Serm. y Woodsiaceae Herter (Hasebe *et al.*, 1995; Rothfels *et al.*, 2012).

La familia se caracteriza por estar compuesta por helechos terrestres o epilíticos, ocasionalmente escandentes, más raramente epífitos o reofíticos, de tamaño pequeño a grande (Rothfels *et al.*, 2012; Sundue & Rothfels, 2014). Los **rizomas** son rastreros, erectos o escandentes, en ocasiones subarborescente, dictiostélicos y con escamas no clatradas. Los **peciolos** usualmente bien desarrollados, surcados adaxialmente. En sección transversal se observan varios haces vasculares, que se presentan generalmente con un patrón en U. Las **frondas** aparecen agrupadas, formando rosetas, o separadas. La **lámina** suele ser pinnatífida o pinnada, con pinnas de enteras a pinnatífidas, menos frecuentemente son simples o lobadas, muy raramente bipinnadas. El **dimorfismo** entre hojas fértiles y estériles está bastante extendido y se desarrolla en distinto grado en función de la especie. El **raquis** está surcado adaxialmente, el surco no es continuo con los de las costas. **Venas** libres o anastomosadas, el patrón de venación es catádromo, al menos en la parte superior de la lámina. Hay géneros en los cuales las venas forman areolas a cada lado de la costa. Los **soros** en las venas secundarias, aparecen discretos o formando cenosoros continuos. Los soros oscilan de cortos a largos, estrechos, y, excepto en pocas ocasiones, con un indusio unido a lo largo del receptáculo y libre hacia la costa o cóstula; ocasionalmente falta el indusio, o es reducido; los **esporangios** se extienden a lo largo de las venas (Moran, 1995; Mickel & Smith, 2004). Los esporangios presentan un anillo longitudinal de muchas células. Esporas monoletas, con perisporio (Copeland, 1947; Kramer *et al.*, 1990; Tryon & Lugardon, 1991; Kasmirczak, 1999; Dittrich, 2005; Passarelli *et al.*, 2010).

Las Blechnáceas son un grupo relevante, su sistemática compleja tiene un gran atractivo para los pteridólogos (Gabriel y Galán *et al.*, 2013; Perrie *et al.*, 2014); su distribución austral disyunta genera gran interés (Barrington, 1993); desde el punto de vista ecológico, algunas especies son elementos dominantes en ciertos ecosistemas,

como por ejemplo, *Lomariocycas schomburgkii* (Klotzsch) Gasper y A.R.Sm. lo es en zonas encharcadas de los páramos andinos [Barrington, 2005; Rolleri *et al.*, 2013; sub *Blechnum schomburgkii* (Klotzsch) C.Chr.] y finalmente algunas especies presentan aplicaciones farmacéuticas y se han empleado como medicinales, fundamentalmente *Blechnopsis orientalis* (L.) C.Presl. (Wada *et al.*, 1992; How *et al.*, 2010; sub *Blechnum orientale* L.).

El género *Blechnum* fue acuñado por Linnaeus (1753) en su “*Species Plantarum*”. Newman (1844) establece la familia Blechnaceae en “*A History of British Ferns*”. El género se ha clasificado tradicionalmente basándose en el tipo de frondas, estériles y fértiles, y muchas veces se establecieron grupos artificiales en función de su diferenciación foliar (monomorfismo, subdimorfismo, dimorfismo).

En las últimas décadas se han presentado diversas clasificaciones para las Blechnaceae: Copeland (1947) reconoció 8 géneros: *Blechnum* L., *Salpichlaena* J.Sm., *Doodia* R.Br., *Brainea* J.Sm., *Sadleria* Kaulf., *Woodwardia* Sm., *Lorinseria* Presl y *Stenochlaena* J.Sm. Pichi-Sermolli (1977) reconoció 12: *Brainea*, *Stenochlaena*, *Blechnum*, *Blechnidium* T.Moore, *Salpichlaena*, *Pteridoblechnum* Hennipman, *Sadleria*, *Chieniopteris* Ching, *Woodwardia*, *Lorinseria*, *Anchistea* C.Presl y *Doodia*. Tryon & Tryon (1982) reconocían 9 géneros: *Salpichlaena*, *Blechnum*, *Woodwardia*, *Diploblechnum* Hayata, *Doodia*, *Pteridoblechnum*, *Brainea*, *Sadleria* y *Stenochlaena*. La clasificación de más consenso hasta la fecha era aquella de Kramer *et al.* (1990) que reconocía 9 géneros: *Blechnum*, *Salpichlaena*, *Doodia*, *Brainea*, *Sadleria*, *Woodwardia*, *Stenochlaena*, *Pteridoblechnum* y *Steenisioblechnum* Hennipman.

Gasper *et al.* (2016b) presentan una nueva concepción de la familia, con una propuesta de clasificación genérica basada en un estudio filogenético con tres marcadores cloroplásticos, en la que redistribuyen las 250 especies existentes en 24 géneros. Algunos de los nuevos géneros habían sido propuestos anteriormente como secciones dentro de *Blechnum* (Moore, 1857); otros se habían incluido dentro de *Blechnum* o *Woodwardia* en distintas publicaciones previas (Tryon & Tryon, 1982), otros géneros habían sido recientemente segregados de *Blechnum*, como es el caso de *Telmatoblechnum* Perrie, D.J.Ohlsen y Brownsey (Perrie *et al.*, 2014) y otros han sido propuestos como nuevos (Gasper *et al.*, 2016b).

Así pues, dentro de las Blechnaceae, en la concepción que seguimos en este trabajo, se reconocen 3 subfamilias y 24 géneros, de los que se resumen a continuación los caracteres obtenidos a través de la literatura (Parris, 1972; Palmer, 1997; Cranfill & Kato, 2003; Rolleri & Prada, 2006a; Gabriel y Galán *et al.*, 2008; Giudice *et al.*, 2008; Rolleri *et al.*, 2008; 2010; 2012b; 2013; Chambers, 2013; Perrie *et al.*, 2014; Gasper *et al.*, 2016b).

Esquema de clasificación y descripción de los géneros

Blechnaceae Newman

Blechnaceae subfamilia Woodwardioideae Gasper, V.A.O.Dittrich & Salino
con 3 géneros y alrededor de 15 especies:

- *Lorinseria* C.Presl: Es terrestre y dimórfica. Los rizomas son reptantes, no estoloníferos. Las frondas son de ovadas a deltadas, las estériles profundamente pinnatífidas, las fértiles 1-pinnadas. Las pinnas estériles son adnatas, estrechamente elípticas, mientras que las fértiles están contraídas, lineares, atenuadas en la base. Venas anastomosadas, formando areolas. Los soros son discretos, están profundamente hundidos en la lámina y están confinados a las areolas costales. x=35. 1 especie que se encuentra en el este de Norteamérica.

- *Anchistea* C.Presl: Es terrestre y presenta frondas monomórficas. Los rizomas son reptantes, no estoloníferos. Las frondas son lanceoladas, 1-pinnadas-pinnatífidas con pinnas de sésiles a subpecioluladas, articuladas al raquis. Venas anastomosadas, formando areolas. Soros discretos, con frecuencia creciendo a ambos lados de las areolas costales y costulares, con frecuencia aparecen confluentes en soros maduros. x=35. 1 especie que se distribuye en el este de Norteamérica.

- *Woodwardia* Sm.: Se trata de un género terrestre, de frondas monomórficas. Los rizomas son reptantes, erectos o decumbentes. Las frondas son lanceoladas, oblongo-lanceoladas, ovado-lanceoladas, en raras ocasiones simples, pinnatífidas, pinnado-pinnatífidas o bipinnatífidas. Las pinnas son

oblongo-lanceoladas. Venas anastomosadas, formando areolas regulares a lo largo de la costa y cóstulas. Soros discretos, hundidos en la lámina, normalmente confinados a las areolas costulares. $x=31,34$. 13 especies. Es uno de los pocos géneros de Blechnaceae que tiene una distribución boreal templada, apareciendo distribuido por todo el hemisferio norte (Fig. 1a).

Blechnaceae subfamilia Stenochlaenoideae (Ching) J.P.Roux con 3 géneros y alrededor de 12 especies:

- *Salpichlaena* J.Sm.: Este género es terrestre escandente, por medio del raquis. Es un género de monomorfo a dimorfo. El rizoma es reptante, no estolonífero. Las frondas tienen un crecimiento indeterminado, pudiendo alcanzar los 15 m de longitud y son bipinnadas, con ápice conforme. Las pinnulas son de lineares a linear-lanceoladas, pecioluladas. Venas simples o furcadas. Presentan cenosoros sobre las venas comisurales paralelas a la costa. $x=40$. 3 especies neotropicales (Fig. 1b).

- *Telmatoblechnum* Perrie, D.J.Ohlsen & Brownsey: Este género es terrestre, en raras ocasiones epipétrico, y presenta frondas monomórficas. Su rizoma es rígido, de corta a largamente reptante. Las frondas son de oblongas a oblongo-elípticas o lanceoladas, con una base truncada y con una pinna terminal conforme no articulada. Las pinnas laterales son articuladas, sésiles a pecioluladas, de linear-lanceoladas a linear-oblongas. La venación es libre, irregularmente bifurcada. Presenta cenosoros costales, más pequeños que las pinnas. $x=36$. Este género comprende 2 especies, una con distribución neotropical y la otra con distribución australasiática-oceánica, aunque hay autores (Rolleri *et al.*, 2010) que opinan que se trata de una única especie con distribución austral (Fig. 1c).

- *Stenochlaena* J.Sm.: Es un género terrestre hemiepifítico, raramente epifítico [*S. areolaris* (Harr.) Copel.], con frondas dimórficas determinadas. Los rizomas son reptantes, escandentes. Las frondas estériles son de ovadas a oblongo-lanceoladas, pinnadas. Las frondas fértiles de pinnadas a bipinnadas [en *S. tenuifolia* (Desv.) T.Moore]. Pinnae de sésiles a subsésiles, de oblongo-ovadas

a lanceoladas. Venas con una única serie de areolas inconspicuas, el resto de simples a furcadas. Presentan cenosoros exindusiados. $x=37$. 7 especies con distribución africana y asiática.

Blechnaceae subfamilia Blechnoideae Gasper, V.A.O.Dittrich & Salino con 18 géneros y alrededor de 239 especies:

- *Brainea* J.Sm.: Este género es terrestre y presenta frondas subdimórficas. Rizomas erectos, robustos, con aspecto de tronco, llegando a medir hasta 1 m de altura y 10 cm de diámetro, no estoloníferos. Frondas elípticas o deltadas-lanceoladas, pinnadas, truncadas en la base y con ápice pinnatífido. Pinnas sésiles o pecioluladas, de lineares a estrechamente oblongas, ligeramente revolutas en los márgenes. La venación es libre o con una fila de areolas costales. Presenta cenosoros exindusiados. $x=33, 35$. 1 especie que se distribuye en China, sudeste de Asia y Malasia.

- *Blechnidium* T.Moore: Este género es terrestre o epipétrico y presenta frondas monomórficas. Rizomas largamente reptantes, delgados, no estoloníferos y muy escamosos. Frondas lanceoladas, pinnatisectas, abruptamente reducidas en la base, ápice pinnatífido. Pinnas adnatas, usualmente falcadas, ligeramente revolutas en los márgenes. Venas parcialmente anastomosadas, con areolas costales. Cenosoros cercanos y paralelos a la costa. $x=31$. 1 especie que se distribuye en China (incluyendo Taiwan) y la India.

- *Struthiopteris* Scop.: Los representantes de este género son plantas terrestres, con frondas de subdimórficas a dimórficas. Presentan rizomas robustos, cortamente reptantes o elongados. Las frondas son oblanceoladas o lanceoladas, de pinnadas a pinnatífidas, gradualmente reducidas proximalmente a aurículas y con ápices pinnatífidos. Las pinnas son adnatas, de oblongo-lineares a linear-falcadas. La venación es libre, inadvertida, furcada, terminando adaxialmente en hidatodos submarginales. Presentan cenosoros. $x=31,34$. Este género tiene 5 especies que se distribuyen en zonas templadas boreales, mayoritariamente en China y Japón, y con *S. spicant* (L.) F.W.Weiss con distribución circumboreal (Fig. 1d).

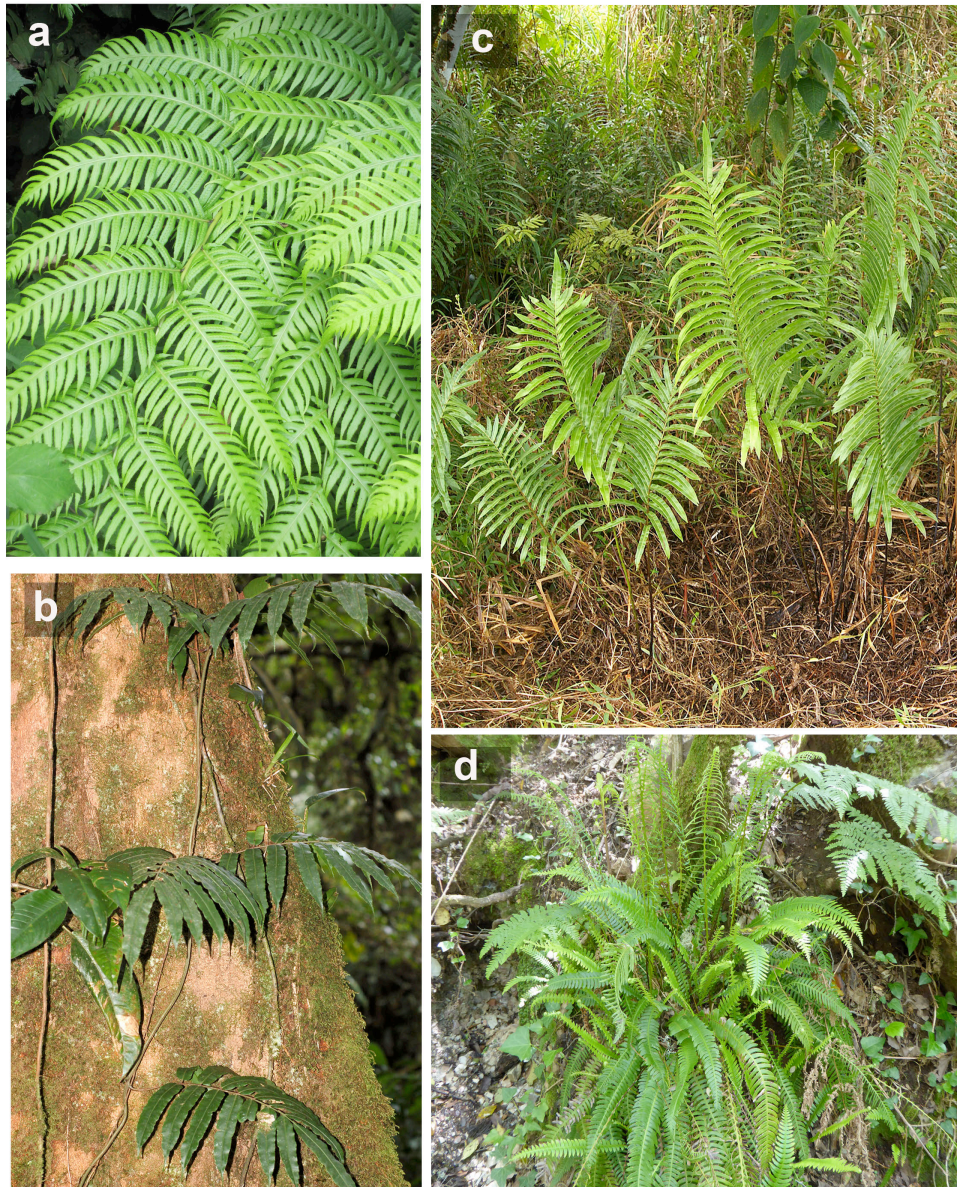


Figura 1. Algunos representantes de la familia Blechnaceae: a) *Woodwardia radicans*, España; b) *Salpichlaena volubilis*, Costa Rica; c) *Telmatoblechnum serrulatum*, Costa Rica; d) *Struthiopteris spicant*, España.

- *Blechnopsis* C.Presl: Se trata de un género terrestre y de frondas monomórficas. Tiene rizomas de erectos a suberectos, no estoloníferos, en ocasiones aglomerados. Frondas de ovadas a deltadas, pinnadas, abruptamente reducidas en la base, ápice subconforme. Pinnas sésiles o subpecioluladas, de linear a estrechamente elípticas, frecuentemente con un lóbulo basiscópico. La venación es libre, uno furcada, cada una terminando en un pequeño hidatodo

adaxial. Cenosoro. $x=32,33,34$. Este género presenta 2 especies y se distribuye en Asia, Malasia, Japón, Australia y las islas del Pacífico.

- *Cleistoblechnum* Gasper & Salino: Este género es terrestre y las frondas son subdimórficas. Presenta rizomas cortos, ascendentes o suberectos, no estoloníferos, que portan en el ápice un penacho de escamas naranja-marrones lanceoladas, que pueden tener una línea central oscurecida. Las frondas fértiles son un poco más largas. Las láminas son pinnatisectas, linear-oblongolanceoladas, con los ápices pinnatífidos. Las pinnas proximales están reducidas a pequeñas aurículas, mientras el resto son adnatas, de oblongas a estrechamente deltadas, con los márgenes enteros, fuertemente revolutos en los márgenes. Las venas son inadvertidas o están completamente escondidas en la lámina subcoriácea. Presentan cenosoros, pero que se mantienen encerrados por el indusio de margen eroso en la madurez. $x=33$. 1 especie con 2 variedades endémicas de China continental y Taiwan.

- *Sadleria* Kaulf.: Las plantas de este género son terrestres o epipétricas y de frondas monomórficas. Presentan rizomas erectos, subarborescentes, no estoloníferos, robustos, cubiertos de escamas marrones, enteras o finamente dentadas o cilioladas en los márgenes. Las láminas son de lanceoladas a elípticas, pinnadas-pinnatífidas o bipinnadas, con los ápices pinnatífidos. Las pinnas son sésiles o cortamente estipitadas. Las venas son furcadas cerca de la costa, unificándose para formar un arco pericostal, terminando en hidatodos. Presentan cenosoros. $x=33$. Este género cuenta con 6 especies endémicas de Hawai (Fig. 2b).

- *Lomaridium* C.Presl: Este género presenta formas hemiepifíticas, trepadoras por rizomas y de frondas dimórficas. Los rizomas son largamente reptantes, no estoloníferos. Las frondas son lanceoladas u ovado-deltadas, profundamente pinnatisectas o pinnadas en la mitad proximal, distalmente pinnatífidas, en ocasiones con ápice conforme. Pinna adnatas, de oblongo agudas a linear-atenuadas o estrechamente triangulares. Presentan una venación libre y cenosoros. $x=29, 32$. En este género se reconocen de 14 a 16 especies que se distribuyen por las regiones tropicales australes, especialmente en el

Neotrópico, este de África y Madagascar, si bien hay 1 especie en Australasia (Fig. 2a).

- *Lomaria* Willd.: Es un género con representantes terrestres y sus frondas son dimórficas. Presentan rizomas erectos, rígidos, estoloníferos o no, formando en ocasiones pequeños troncos. Las láminas son lanceoladas u oblongo-elípticas, pinnadas o pinnatisectas, reducidas gradualmente en la base y con ápices pinnatisectos. Las pinnas son de adnatas a subpeciouladas, oblongas, de lineares a lanceoladas. Presentan una venación libre, 1 ó 2 furcadas, en ocasiones acabando adaxialmente en hidatodos. Tienen cenosoros. $x=28$. Este género tiene 6 especies con distribución austral, apareciendo en el sur de América y África, Australia y Nueva Caledonia (Fig. 2c).

- *Icarus* Gasper & Salino: Este género es terrestre, trepador por rizomas. Es un género que presenta frondas trimórficas: dos tipos de frondas estériles (las terrestres y las trepadoras) y un tipo de frondas fértiles. Tiene rizomas largamente reptantes, trepadores, no estoloníferos y delgados, densamente cubiertos de escamas bicoloras. Las láminas son de lanceoladas a estrechamente oblongas, las terrestres más pequeñas que las epifíticas, 2-6 pares de pinnas, ápice pinnatífido. Las pinnas son estrechamente triangulares, truncadas en la base, sésiles o cortamente pecioladas. La venación es libre, simple o furcada, terminando en hidatodos submarginales. Presenta cenosoros. $x=33$. 1 especie endémica de Nueva Zelanda.

- *Cranfillia* Gasper & V.A.O.Dittrich: Este género es terrestre y presenta frondas dimórficas. Los rizomas son de cortamente reptantes a más usualmente suberectos o erectos. Frondas de linear-oblongas a deltadas, truncadas o gradualmente reducidas en la base, pinnadas o pinnatífidas. Pinnae de subpeciouladas a adnatas, de oblongas a lanceoladas, a veces falcadas. La venación es libre, 1 ó 2 furcada, terminando adaxialmente en pequeños hidatodos submarginales. Cenosoros. $x=33$. En este género se agrupan 12 especies que se distribuyen mayoritariamente en Oceanía, aunque hay 3 de ellas con distribución neotropical.

- *Blechnum* L.: Las plantas de este género son terrestres, epipétricas y en raras ocasiones epifíticas y presentan frondas monomórficas o subdimórficas.

Tienen rizomas de erectos a decumbentes. Frondas de lanceoladas a deltado-lanceoladas, pinnatisectas o pinnadas, gradualmente reducidas o truncadas proximalmente, ápices pinnatífidos o conformes. Pinnas sésiles, adnatas o subpecioluladas, lanceoladas, oblongo-lanceoladas o ensiformes. La venación es libre, con venas 1-3 furcadas. Cenosoros. $x=31$. Este género presenta 26 especies y 4 híbridos. Su distribución es mayoritariamente neotropical, si bien unas pocas especies aparecen también en el sur de África (Fig. 2d).

- *Austroblechnum* Gasper & V.A.O.Dittrich: Es un género terrestre o epipétrico, con frondas dimórficas. Los esporófitos son de pequeños a medianos, con rizomas de erectos a postrados, corta o largamente reptantes, los estípites en ocasiones aglomerados. Las frondas son lanceolado-acuminadas, estrechamente elípticas u ovadas, de pinnatisectas a pinnadas, en raras ocasiones enteras, reducidas en la base o truncadas, en ocasiones con pinnas vestigiales, ápices pinnatífidos o pinnatisectos. Las pinnas son parcial o totalmente adnatas al raquis, falcadas, oblongas o ensiformes. La venación es libre, 1 ó 2 furcada, con extremos que se ensanchan formando hidatodos adaxialmente. Las especies de *Austroblechnum* presentan cenosoros. $x=33$. Este género comprende 37 especies y 2 híbridos. Este género tiene una distribución desde zonas tropicales a zonas templadas del Hemisferio Sur (Fig. 2e).

- *Diploblechnum* Hayata: Se incluyen en el género plantas terrestres y dimórficas o subdimórficas. Tiene rizomas delgados, de larga a cortamente reptantes. Las frondas son de ovadas a estrechamente elípticas, de pinnadas a profundamente pinnatífidas, o de bipinnatisectas a bipinnadas, normalmente haciéndose bipinnatífidas distalmente. Pinnas de subpecioluladas a adnatas, de estrechamente lineares a estrechamente elípticas, lanceoladas. La venación es libre, 1 furcada, cada vena terminando en un hidatodo clavado o venación anastomosada [*D. neglectum* (F.M.Bailey) Gasper & V.A.O.Dittrich] formando areolas poligonales. Cenosoros. $x=27, 28$. Este género tiene 6 especies que se distribuyen en Malasia, Australia y Oceanía.

- *Oceaniopteris* Gasper & Salino: Este género es terrestre y presenta frondas dimórficas o subdimórficas. Los rizomas son de cortamente reptantes a erectos, no estoloníferos, rígidos, a veces con aspecto de tronco, cubiertos con

escamas negras [a excepción de la especie acuática *O. francii* (Rosenst.) Gasper & Salino]. Las láminas son de deltadas a ovadas, pinnadas o pinnado-pinnatisectas, ligeramente reducidas en la base y con ápices pinnatífidos. Las pinnas son adnatas o pecioluladas, de lineares a estrechamente elípticas. La venación es libre, furcada, cada vena terminando adaxialmente en un hidatodo clavado. Cenosoros. $x=32$. Este género cuenta con 8 especies que se distribuyen por Malasia, Fiji, Nueva Caledonia y Australia (Fig. 3b).

- *Doodia* R.Br.: Es un género terrestre y presenta frondas dimórficas. Presenta rizomas de erectos a ascendentes, a veces estoloníferos. Las láminas son linear-lanceoladas, lanceolado-acuminadas, de profundamente pinnatífidas a pinnadas. Las pinnas son sésiles o adnatas, lanceoladas, a veces falcadas, de ovadas a lineares. Las venas presentan una o tres series de areolas y los soros son discretos en una o varias filas en ambos lados de la costa. $x=32$. Este género cuenta con 19 especies que se distribuyen por Australia, Nueva Zelanda, e islas Pacíficas hasta Hawai, pero concretamente *Doodia caudata* (Cav.)R.Br. tiene carácter invasivo y se la encuentra con dicho estatus en el archipiélago de las Azores. Sin embargo, Benl (1971) hipotetiza que la llegada de este helecho invasivo debió suceder hace ya mucho tiempo, ya que las poblaciones están plenamente establecidas en la actualidad (Fig. 3a).

- *Neoblechnum* Gasper & V.A.O.Dittrich: Este género presenta plantas terrestres y frondas monomórficas. Los rizomas son erectos, rígidos, con aspecto de tronco, no estoloníferos, cubiertos con escamas negras. Las láminas son oblongo-lanceoladas, de pinnadas a pinnatisectas, gradualmente reducidas en la base, con lóbulos reducidos en la base de la lámina y el ápice pinnatífido. Las pinnas están adnatas al raquis, decurrentes, de lineares a linear-lanceoladas, con los márgenes serrulados. La venación es libre, 1-furcada y presenta cenosoros. $x=66$. Este género sólo cuenta con 1 especie con distribución neotropical (Fig. 3c).



Figura 2. Algunos representantes de la familia Blechnaceae: a) *Lomaridium fragile*, Costa Rica; b) *Sadleria cyatheoides*, Jardín Botánico de Berkeley; c) *Lomaria discolor*, JB Berkeley; d) *Blechnum occidentale*, Costa Rica; e) *Austroblechnum penna-marina*, JB Berkeley.

- *Parablechnum* C.Presl: Es un género con plantas terrestres. Sus frondas son mayoritariamente dimórficas, raramente monomórficas o subdimórficas. Presentan rizomas erectos o suberectos, a veces de subarborescentes a decumbentes, cortamente reptantes, no estoloníferos, a veces cubiertos con mucílago. Las láminas son de oblongas a lanceoladas, 1-pinnadas, con la base

truncada y el ápice conforme. A veces presentan aeróforos en la base abaxial de las pinnas. Pinnae sésiles o pecioluladas, sin articular [a excepción de *P. articulatum* (F.Muell.) Gasper & Salino], a menudo falcadas, oblongo-lineares, lanceoladas. La venación es libre, de simple a 1-furcada. Presentan cenosoros. $x=28, 31, 33$. 65 especies pantropicales (Fig. 3d).

- *Lomariocycas* (J.Sm.) Gasper & A.R.Sm.: Las plantas de este género son terrestres, arborescentes, de forma excepcional epifíticas y presentan frondas dimórficas, raramente monomórficas. Tienen rizomas erectos, rígidos, con aspecto de tronco, no estoloníferos, densamente cubiertos con escamas bicoloras. Las láminas de las frondas son de oblanceoladas a elípticas, pinnadas, pinnatisectas distalmente, acabando en un segmento grande y entero, y proximalmente reducidas a pequeñas aurículas. Las pinnae son de sésiles a subpecioluladas o parcialmente adnatas, de lineares a oblongas, fuertemente revolutas. La venación es libre y presentan cenosoros. $x=33$. Este género tiene 19 especies que se distribuyen en el Neotrópico, África continental y Madagascar (Fig. 3e).



Figura 3. Algunos representantes de la familia Blechnaceae: a) *Doodia aspera*, JB Berkeley; b) *Oceaniopteris gibba*, JB Berkeley; c) *Neoblechnum brasiliense*, Costa Rica; d) *Parablechnum schiedeanum*, Costa Rica; e) *Lomariocycas schomburgkii*, Costa Rica.

Como complemento a la descripción taxonómica, se acompaña el árbol filogenético resumido de los géneros de la familia (Fig. 4)[extractado de: Gabriel y Galán *et al.*, 2013; Perrie *et al.*, 2014; Gasper *et al.*, 2016a].

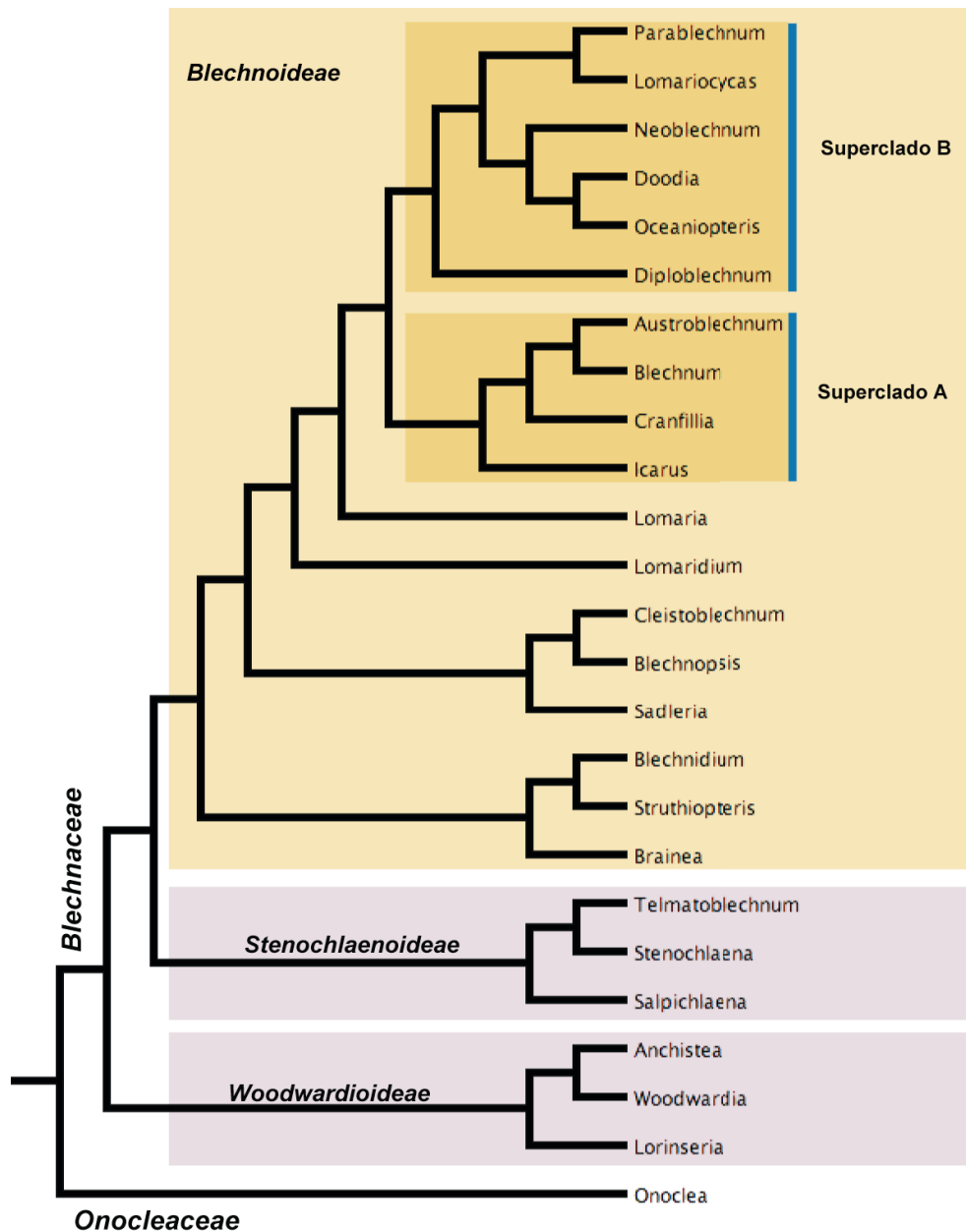


Figura 4. Árbol filogenético resumido de los géneros de la familia Blechnaceae, extractado de Gabriel y Galán *et al.* (2013); Perrie *et al.* (2014) y Gasper *et al.* (2016a).

Avances en un nuevo contexto sistemático

La propuesta general de Gasper *et al.* (2016b), que se sigue en este trabajo y que se ha comentado anteriormente, ha supuesto un notable avance en la dilucidación de la sistemática de la familia. Así, con la aceptación de los nuevos géneros, se puede comprender y explicar mejor la gran diversidad de tipos morfológicos, esporales y cromosómicos que se pueden encontrar en la familia.

No obstante, en este nuevo contexto sistemático, algunas cuestiones siguen en pie. Por ejemplo: la adecuación entre la filogenia molecular y la existencia de diversos grupos morfológicos, pues ahora hay varios géneros filogenéticamente lejanos que comparten una gran cantidad de caracteres morfológicos; o bien, la disputa sobre el origen geográfico de la familia de la cual se ha hablado previamente. Además, han surgido nuevos interrogantes, como la filogenia interna de los géneros actuales, su posible monofilia, evolución de caracteres morfológicos, etc.

Para continuar en la profundización de la sistemática de la familia y con el ánimo de cubrir algunas de las lagunas señaladas, en este trabajo se van a abordar los siguientes aspectos: Filogenia y biogeografía del género *Lomaridium*; estudio taxonómico del complejo *Parablechnum cordatum*; y finalmente, un estudio evolutivo de las pinnas fértiles en la familia Blechnaceae. En las siguientes páginas procedemos a detallar cada uno de ellos.

Especies hemiepifíticas. Género *Lomaridium*

El género *Lomaridium* fue descrito por Presl (1851). Tras ser considerado como sinónimo de *Blechnum* durante varias décadas (Tryon & Tryon, 1982), *Lomaridium* engloba a 16 especies en su concepción actual (Gasper *et al.*, 2016b). Filogenéticamente, este género se sitúa dentro de la subfamilia Blechnoideae, como basal dentro de un grupo formado por el género *Lomaria*, el superclado A (*Icarus* + *Cranfillia* + *Blechnum* + *Austroblechnum*) y el superclado B (*Diploblechnum* + *Lomariocycas* + *Neoblechnum* + *Oceaniopteris* + *Doodia* + *Parablechnum*) [Fig. 4; Gasper *et al.*, 2016a].

El género comprende un grupo de especies hemiepifíticas, trepadoras por rizomas en los bosques tropicales; si bien, rara vez pueden comportarse como holoeplífitos, o también los individuos juveniles o adultos subdesarrollados de algunas especies pueden aparecer como terrestres. Las especies de este género comparten los siguientes caracteres (Fig. 5): escamas del rizoma ovadas, lanceoladas o linear-lanceoladas, margen denticulado, con ápice agudo o filiforme, bicoloras o tricoloras, rara vez concoloras; plantas dimórficas; trofófilos pinnados con pinnas adnatas, la base de la lámina con lóbulos altamente reducidos; ápice de la fronda conforme o pinnatífido; glabras pero a veces con raquis glandular; pinnas fértiles contraídas, con la lámina reducida debido a que los márgenes están fuertemente recurvados; el indusio forma una estructura compleja que mantiene la distribución anatómica de la hoja, al menos en la base; esporas monoletas con perisporio con retículo bajo (Tryon & Tryon, 1982; Kramer *et al.*, 1990; Passarelli *et al.*, 2010; Prada *et al.*, 2016). Curiosamente, estas especies no son las únicas que tienen un hábito trepador o hemiepífito dentro de las Blechnaceae. Hay algunas otras especies que también tienen hábito trepador obligado u ocasional [por ejemplo: *Blechnum anthracinum* R.C.Moran, *Icarus filiformis* (A.Cunn.) Gasper & Salino, *Parablechnum hieronymi* (Brause) Gasper & Salino, *Lomaria oceanica* (Rosenst.) Gasper & V.A.O.Dittrich y *Lomariocycas werckleana* (Christ) Gasper & A.R.Sm.]; sin embargo, la ausencia del resto de caracteres citados anteriormente para el género *Lomaridium* hace que no se los incluya en el mismo. El número cromosómico asignado al género ($x=29$; Gasper *et al.*, 2016b) está basado, al menos hasta donde sabemos, en el recuento de dos especies (Smith & Foster, 1984; Kurita, 1986).

Las siguientes especies hemiepifíticas han sido seleccionadas e incluidas en el presente estudio (Fig. 6), basándonos en floras relativamente recientes (Moran, 1995; Chambers & Farrant, 1998a; Parris, 2006; Rolleri & Prada, 2006b; Roux, 2009; Rakotondrainibe *et al.*, 2013) y actualmente se consideran parte del género hemiepifítico *Lomaridium* (Gasper *et al.*, 2016b): *L. acutum* (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. attenuatum* (Sw.) Gasper & V.A.O.Dittrich [incluye *Blechnum giganteum* (Kaulf.) Schldl.; Rakotondrainibe *et al.*, 2013], *L. biforme* (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich [incluye *Blechnum microbasis* (Baker) C.Chr.], *L. binervatum* (Poir.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. contiguum* (Mett.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. ensiforme* (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. fragile* (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L.*

fuscosquamosum (A.Rojas) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. schottii* (Colla) Gasper & V.A.O.Dittrich y *L. simillimum* (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich. Se ha incluido también *Blechnum kunthianum* C.Ch., como una especie diferente, siguiendo el criterio de algunos autores (Morton & Lellinger, 1967; Durán, 1997). Se propone más adelante una nueva combinación para este nombre en *Lomaridium*, como *L. angustifolium*.

Las siguiente tres especies se consideran parte de este género, pero carecemos de material para poder incluirlas en el estudio: *L. nigrocostatum* (A.Rojas) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. plumieri* (Desv.) C.Presl y *L. pteropus* (Kunze) Gasper & V.A.O.Dittrich.

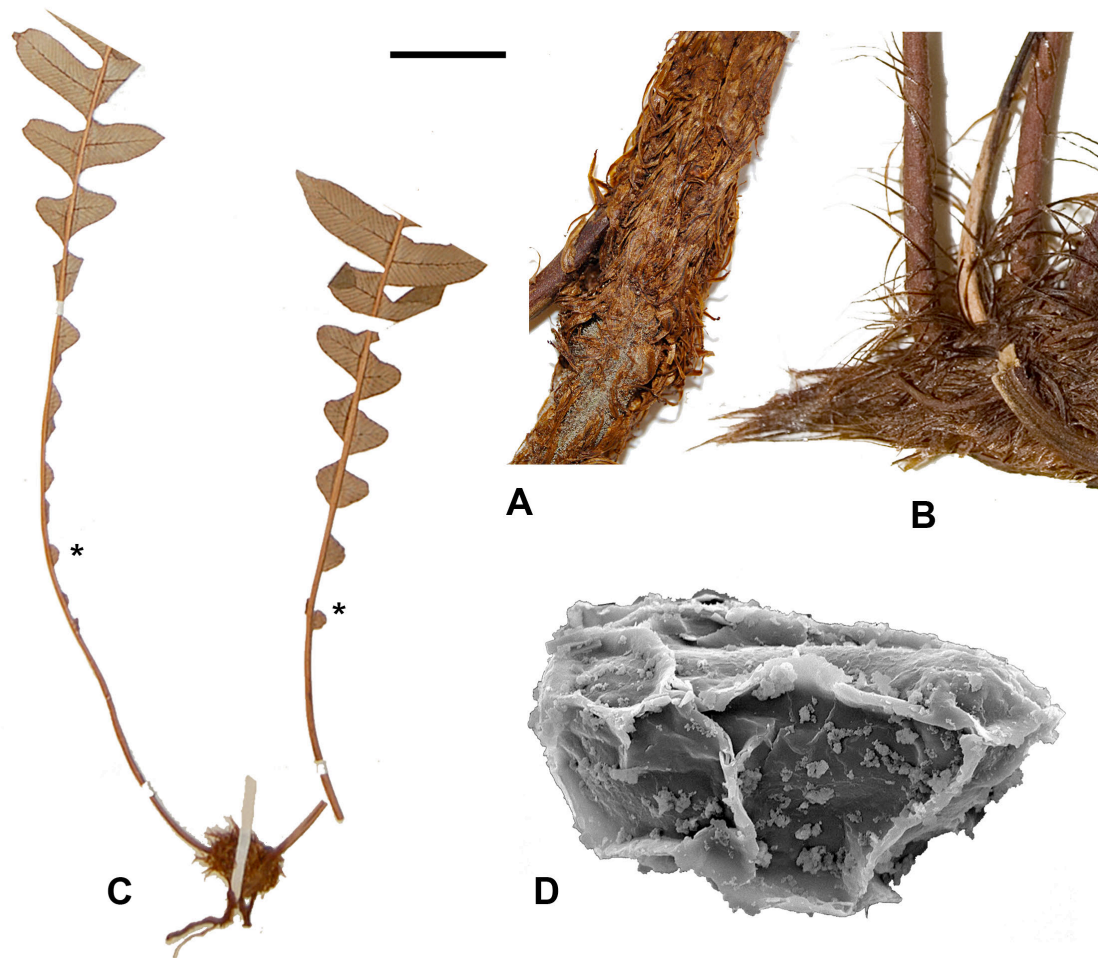


Figura 5. Algunas características morfológicas de *Lomaridium*: a) Fragmento parcial del rizoma, mostrando escamas bicoloras, *L. acutum* (UC 1793954, sub *Blechnum acutum*); b) Fragmento parcial del rizoma, con escamas bicoloras, *L. biforme* (UC 1604665, sub *Blechnum microbasis*); c) Peciolos y parte basal de la lámina, con lóbulos altamente reducidos y separados (*), *L. attenuatum* (UC 956249, sub *Blechnum attenuatum*); d) Espora, con perisporio reticulado bajo, *L. fragile* (LIL 409018, sub *Blechnum fragile*). Barra = 1.5 cm en a y b; 2.5 cm en c; 13 µm en d.

Con respecto a las listas previas de especies (Gasper *et al.*, 2016b), hemos decidido apartar del presente estudio dos taxones por no considerarlos especies independientes: primero *L. xiphophyllum* (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich, el cual es taxonómicamente difícil de segregar de *L. simillimum*. Autores previos (Rakotondrainibe *et al.*, 2013) atribuyeron estos problemas a hibridaciones continuas e intensas entre las dos especies en el medio natural, y ante la ausencia de estudios abocados a la resolución de dicho problema, se decidió mantener las especies como distintas. Sin embargo, en nuestra opinión, es más razonable mantenerlas como co-específicas hasta que se realicen análisis para separar las dos entidades; opinión compartida por otros autores (Schelpe, 1952; Roux, 2009). Segundo, *L. dendrophilum* (Sodirol) Gasper & V.A.O.Dittrich, cuyo estatus taxonómico es incierto debido a que el espécimen tipo se encuentra desaparecido (Navarrete & Pitman, 2003; sub *Blechnum dendrophillum*), y su aspecto es similar a *L. fragile* (Sodirol, 1893). Hasta que se compile nueva información al respecto, se decide no incluir dichas especies en este trabajo.

Por último, la descripción original de *L. bonapartei* (Rakotondr.) Gasper & V.A.O.Dittrich (Rakotondrainibe *et al.*, 2013; sub *Blechnum bonapartei*) la define como planta terrestre o epilítica, con rizoma no reptante y escamas con márgenes enteros. No hay ninguna información, molecular o morfológica que sugiera que esta especie pudiera pertenecer al género *Lomaridium*. Por lo cual no se la incluye en este trabajo.

El género *Lomaridium* ocupa una distribución meridional, que se extiende desde algunas islas del Pacífico (Nueva Caledonia e Isla Norfolk), Sur y Centro América (incluyendo alguna isla como Juan Fernández, en el Océano Pacífico) y Sur y Centro de África (incluyendo islas como Madagascar y la Reunión). Esta distribución sugiere un patrón de origen austral seguido de una subsecuente dispersión, lo cual coincide con las investigaciones previas en relación a la distribución de la familia Blechnaceae (Chambers & Farrant, 2001).

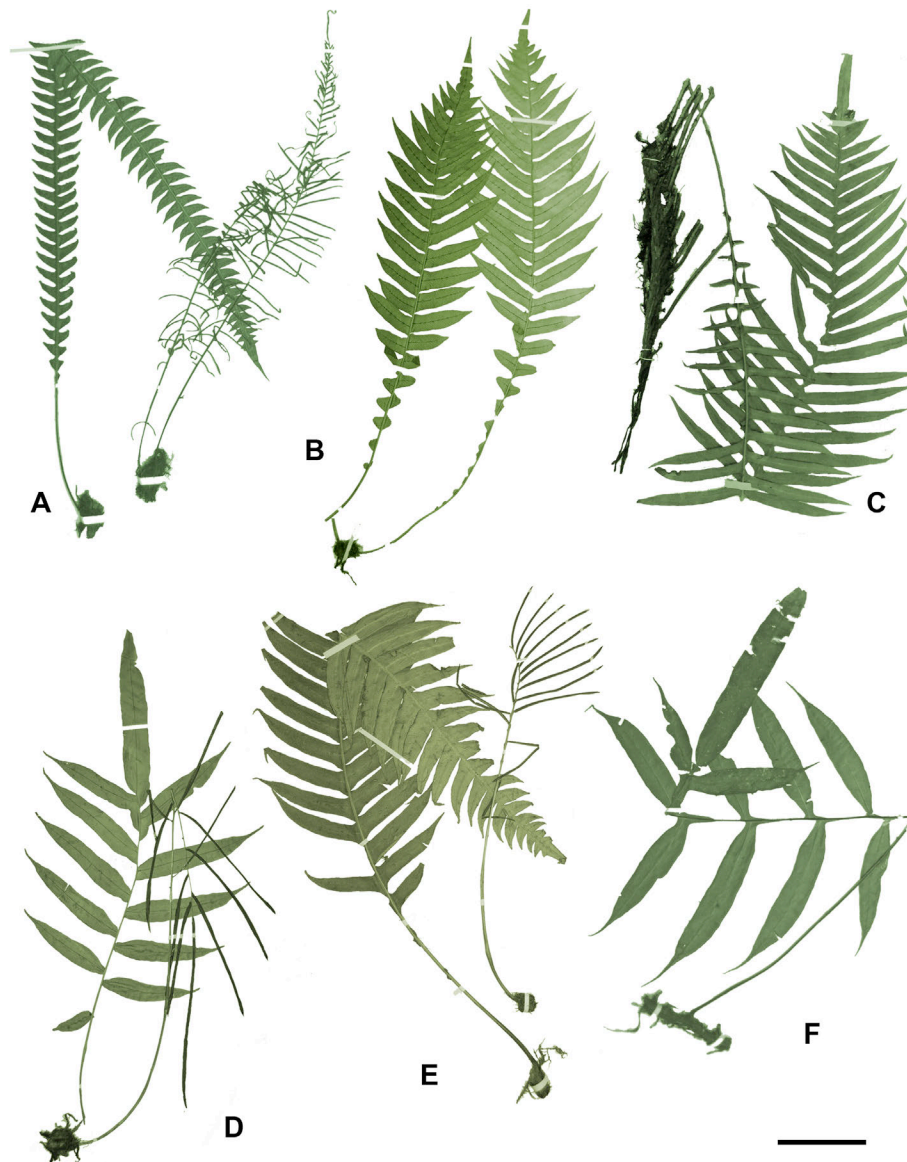


Figura 6. Algunos representantes de *Lomaridium*: a) *L. fragile* (UC 1548973, sub *Blechnum fragile*); b) *L. attenuatum* (UC 956249, sub *Blechnum attenuatum*); c) *L. angustifolium* (CONC 37734, sub *Blechnum kunthianum*); d) *L. simillimum* (UC 1871997, sub *Blechnum simillimum*); e) *L. ensiforme* (UC 1525289, sub *Blechnum ensiforme*); f) *L. acutum* (UC 1745469, sub *Blechnum acutum*). Barra = 7 cm.

Las especies que nos ocupan han sido someramente estudiadas en análisis filogenéticos previos de Blechnaceae. En una filogenia general de los grupos morfológicos de las especies americanas de *Blechnum* s.l. en la cual se incluían 19 especies, el grupo hemiepifítico estaba únicamente representado por *Lomaridium fragile* (Gabriel y Galán *et al.*, 2013; sub *Blechnum fragile*). Perrie *et al.* (2014) analizaron un set expandido de 113 taxones, que incluía especies oceánicas y americanas de la familia.

En otro caso se analiza toda la familia con un set que engloba toda su variabilidad, y es el primer estudio en el que el género *Lomaridium* se analiza con representantes de América, África y Oceanía (Gasper *et al.*, 2016a). Según los anteriores estudios el género *Lomaridium* es monofilético y como ya se ha dicho, ocupa una posición basal dentro de la subfamilia Blechnoideae de las Blechnaceae junto con otros siete géneros, hermanos a los dos superclados que se contemplan en dicha subfamilia.

En este trabajo se pretende investigar las relaciones de las especies y explorar los patrones históricos biogeográficos del género.

Especies cordatoides. Género *Parablechnum* p.p.

El género *Parablechnum* fue descrito por Presl (1851), aunque posteriormente se incluyó en *Blechnum*. El género *Parablechnum* engloba a 65 especies en su concepción actual (Gasper *et al.*, 2016b). Este género tiene una distribución pantropical y es filogenéticamente cercano a los géneros: *Lomariocycas*, *Neoblechnum*, *Oceaniopteris* y *Doodia* según Gasper *et al.* (2016), formando parte del superclado B (Fig. 4).

Las especies de este género comparten los siguientes caracteres: hábito terrestre; rizomas erectos o suberectos, a veces de subarborescentes a decumbentes, rastreros, no estoloníferos, con escamas de rojizas a marrones, bicoloras o concoloras, ovadas u ovado-lanceoladas, enteras o denticuladas, monostratas, los rizomas a veces cubiertos por mucílago; frondas usualmente dimórficas, raramente monomórficas o subdimórficas; peciolo erecto, largo, estramíneo, marrón brillante o purpúreo oscuro, con escamas proximales similares a aquellas del rizoma, rara vez con pelos recurvados; láminas concoloras, de oblongas a lanceoladas, 1-pinnada, con la base truncada, ápice conforme; raquis de glabros o glabrescentes a densamente escamosos; en ocasiones en la base de la cara abaxial de la pinna desde el peciólulo nacen aeróforos; pinnas sésiles o pecioluladas, sin articular (excepto en *P. articulatum*), con frecuencia falcadas, oblongo lineares, lanceoladas, con márgenes planos o revolutos, enteras o finamente denticuladas; venas libres, de simples a 1-furcadas, adaxialmente clavadas en el ápice, cerca de los márgenes de la pinna; soros lineares, indusios de subenteros a lacerados o erosos. Las esporas presentan un perisporio cristado-reticulado, con crestas altas, estrechas, que tienden a anastomosarse delimitando areolas poligonales (Fig. 7). Las areolas tienen procesos filamentosos (Passarelli *et al.*, 2010).

El género *Parablechnum* pasa por ser uno de los más complejos de las Blechnaceae en lo taxonómico, por varias razones: presenta una biodiversidad muy elevada (65 especies reconocidas a día de hoy); una gran variabilidad morfológica de algunos de los taxones, posiblemente asociada a plasticidad fenotípica ambiental; hay taxones que están pobremente caracterizados (bien por haber pocas recolecciones, bien por haber poco material en los herbarios y en ocasiones mal determinado, etc.), hay un alto grado de hibridación en algunas especies, formando complejos de especies difíciles de separar; y finalmente, existen dos grandes centros de diversidad (América y Australasia). Todas estas razones hacen que, en numerosas ocasiones, subsistan muchas dudas taxonómicas. Es el caso del complejo *P. procerum* (Chambers & Farrant, 1998b; sub *Blechnum procerum*) o del complejo *P. cordatum* (Desv.) Gasper & Salino.

Parablechnum chilense, *P. cordatum* y *P. schiedeanum* forman un complejo de especies difíciles de separar por los caracteres taxonómicos tradicionalmente usados en las Blechnaceae (Fig. 7). *Parablechnum cordatum*, que se distribuye por la zona norte de Sudamérica (desde Colombia hasta el norte de Argentina), ha sido estudiada por diversos autores que coincidían en la observación de que esta especie presenta grandes variaciones morfológicas (Kasmirczak, 1999; Mickel & Smith, 2004; Ramos Giacosa *et al.*, 2004; 2006). *Parablechnum cordatum* tiene esporófitos grandes, rizomas erectos escamosos, frondas dimórficas con estípites y otros ejes escamosos. Sus láminas estériles son de lanceoladas a oblongas con pinnas coriáceas, lanceolado-oblongas, de finamente denticuladas a aserradas, superficialmente escamosas y pilosas, pecioluladas, y sus láminas fértiles son estrechamente lanceoladas con el tejido vegetativo de las pinnas reducido a la porción de la lámina que lleva el cenosoro, el indusio es de ondulado a eroso. La venación es simple, las venas son geminadas y bifurcadas al azar a distancias variables de la costa, terminando en grandes hidatodos. Los aeróforos pueden aparecer o no en la base de las pinnas.

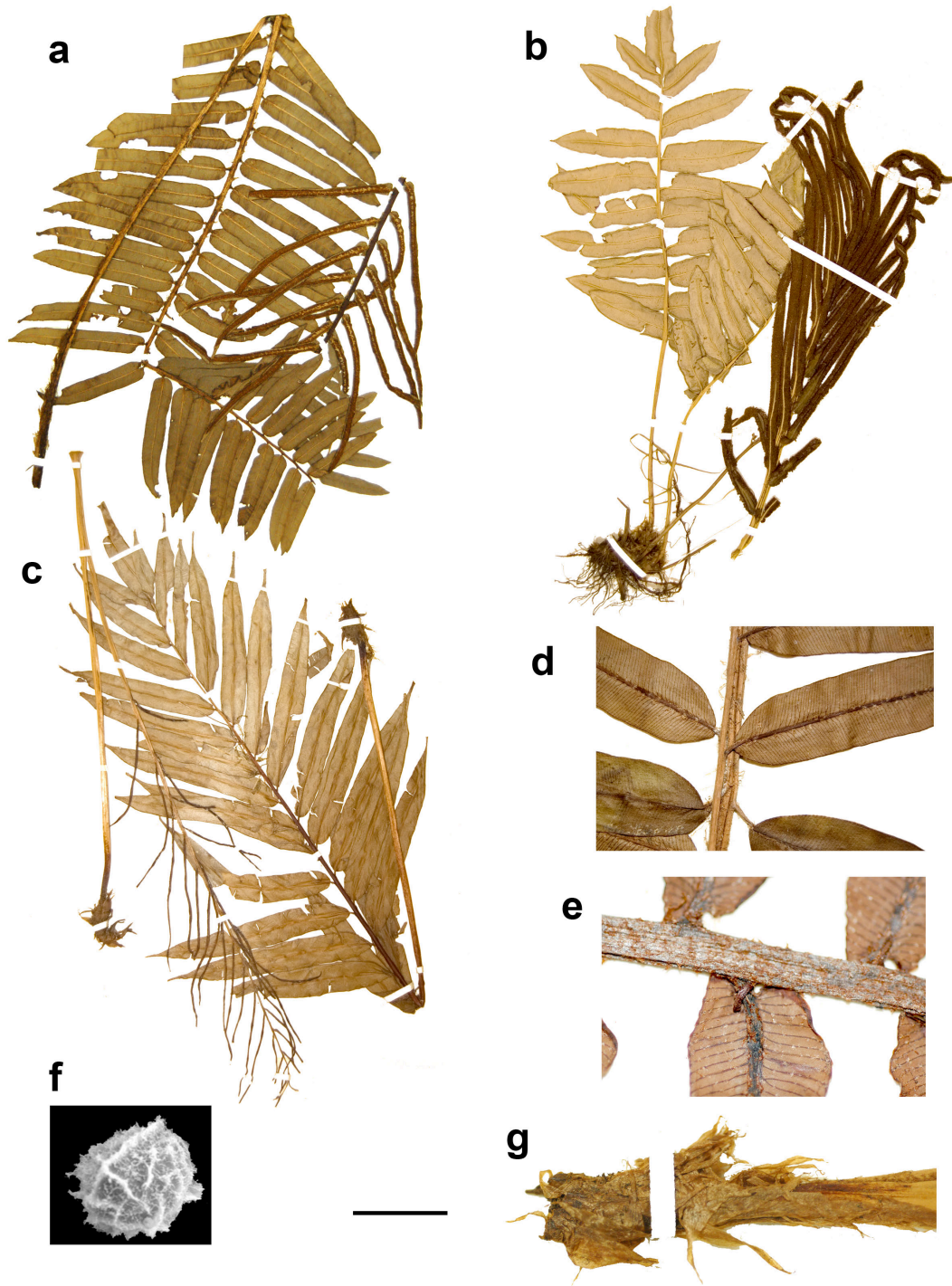


Figura 7. Especies y caracteres del género *Parablechnum*: a) *P. cordatum* (UC 1735031, sub *Blechnum cordatum*, Venezuela); b) *P. chilense* (UC 1333995, sub *Blechnum chilense*, Chile); c) *P. schiedeanum* (UC 1013393, sub *Blechnum schiedeanum*, Honduras); d) detalle de las pinnas pecioluladas, *P. schiedeanum*, (UC 1526306, sub *Blechnum schiedeanum*); e) detalle de aeróforo, *P. cordatum* (UC 1619273, sub *Blechnum cordatum*); f) espora, *P. schiedeanum* (MA 702487, sub *Blechnum schiedeanum*); g) detalle de las escamas del rizoma, *P. schiedeanum* (UC 995565, sub *Blechnum schiedeanum*). Barra = 4 cm en a y c; 5 cm en b; 2 cm en d; 0.7 cm en e; 45 μ m en f; 1.1 cm en g.

Las esporas son monoletas, con perisporio crestado-reticulado con procesos filiformes (Rodríguez Ríos, 1995; Prada *et al.*, 2008; Passarelli *et al.*, 2010). Debido a estas variaciones morfológicas, durante varias décadas las especies *P. chilense*, que se distribuye en Chile, y con dudas en Argentina, y *P. schiedeanum*, que se distribuye en Centroamérica, han sido tratadas indistintamente como entidades independientes (De la Sota, 1972; Moran, 1995; Rodríguez Ríos, 2015; Gasper *et al.*, 2016b; sub *Blechnum chilense*, *Blechnum cordatum* y *Blechnum schiedeanum*) o como sinónimos de *P. cordatum* (Tryon & Stolze, 1993; Prada *et al.*, 2008), conformando un complejo que podemos denominar *P. cordatum s.l.* Distintos autores han indicado la necesidad de un estudio monográfico al respecto (Tryon & Stolze, 1993; Moran, 1995; Dittrich *et al.*, 2017).

En el presente estudio se pretende desentrañar este problema taxonómico y descifrar finalmente si dichas especies han de ser consideradas sinónimas o entidades diferenciadas.

Para tener una mayor representatividad del género, más allá del complejo de estudio, se han incluido las siguientes especies en este trabajo: *P. corbassonii* (Brownlie) Gasper & Salino, *P. gregsonii* (Tindale) Gasper & Salino, *P. loxense* (Kunth) Gasper & Salino, *P. montanum* (T.C.Chambers & P.A.Farrant) Gasper & Salino, *P. procerum* (G.Forst) C.Presl, *P. wattsii* (Tindale) Gasper & Salino.

Evolución de las pinnas fértiles

Distintos autores han hecho referencia a la ontogenia o a la estructura de los esporangios maduros, a la importancia que pueden tener algunos rasgos en la taxonomía, así como su variación, en diversos géneros de helechos leptosporangiados, como la familia Blechnaceae (Bower, 1914; 1928; Wilson, 1959). Copeland (1947) aventuró también los estados más primitivos y modernos para varios caracteres en las Blechnaceae, por ejemplo comentó que “no veo razones para dudar que la regla general, de que las frondas monomórficas son más primitivas que las dimórficas, se aplica a *Blechnum* (s.l.)”. Hace unos años se realizó un estudio citológico que incluía la ontogenia del esporangio en especies de *Blechnum* s.s. (Gonzalez *et al.*, 2010). Recientemente se han realizado varias aportaciones de datos específicos sobre esporas o

morfología de los indusios, que sugieren que la variación de los caracteres estructurales de dichos caracteres, junto con los de las frondas fértiles, tienen en conjunto importancia taxonómica en diferentes niveles jerárquicos (Rolleri & Prada, 2006a; Passarelli, 2007; Gabriel y Galán *et al.*, 2008; Giudice *et al.*, 2008; Prada *et al.*, 2008; Rolleri *et al.*, 2008; 2012a; 2012b; 2013).

Prada *et al.* (2016) propusieron un estudio de la morfología de las pinnas fértiles, indusios y esporangios en 42 taxones de la familia Blechnaceae, la mayoría de ellos neotropicales, con la excepción de una especie paleotropical. El principal objetivo de dicho estudio era el de comprobar el valor diagnóstico de los caracteres de las pinnas fértiles, indusios y esporangios en la familia. Los autores concluyeron que los caracteres relacionados con la anatomía de la fronda fértil, y de la estructura que funciona como indusio, son relevantes como diagnósticos de grupos de especies, grupos que en su mayoría coinciden con los nuevos géneros propuestos por Gasper *et al.* (2016). Además, concluyeron que los rasgos de los esporangios (número de células del anillo, del estomio, células del pedicelo) son característicos de las especies, y por ello útiles en la identificación de éstas.

Cada vez cobran mayor relevancia los análisis cladísticos evolutivos de caracteres morfológicos cuando está disponible una filogenia molecular de un grupo de organismos. Estos estudios permiten plantear hipótesis sobre cuál ha sido la secuencia probable de acontecimientos en la evolución de las estructuras morfológicas, teniendo en cuenta la hipótesis filogenética de partida. En el caso de las Blechnaceae solo hay publicados cuatro estudios filogenéticos más o menos detallados, uno para las especies neozelandesas (Shepherd *et al.*, 2007), otro enfocado en la diversidad americana (Gabriel y Galán *et al.*, 2013), otro que incluye especies americanas y australasiáticas (Perrie *et al.*, 2014) y uno muy reciente, del cual se ha hablado anteriormente, que engloba todos los géneros de la familia (Gasper *et al.*, 2016a). Sin embargo, ninguno de ellos ha llevado asociado un análisis explícito de evolución de caracteres. No obstante, algunas especies de la familia han sido incluidas en análisis cladísticos de caracteres morfológicos para conjuntos amplios de helechos (Pryer *et al.*, 1995; Sundue & Rothfels, 2014). Aún así, precisamente lo diverso de la muestra en estos casos obstaculiza una profundización en cuestiones más concretas en el seno de las familias y géneros. El presente estudio se plantea también como objetivo cubrir esta laguna de conocimiento, realizando un análisis cladístico de algunos de los caracteres más

interesantes de las pinnas fértiles de las Blechnaceae. Se realizará pues un estudio cladístico de los caracteres, sobre un árbol molecular, incluyendo los siguientes géneros: *Lorinseria*, *Anchistea*, *Woodwardia*, *Salpichlaena*, *Telmatoblechnum*, *Stenochlaena*, *Struthiopteris*, *Blechnopsis*, *Lomaridium*, *Lomaria*, *Cranfillia*, *Blechnum*, *Austroblechnum*, *Lomariocycas*, *Neoblechnum*, *Oceaniopteris*, *Doodia* y *Parablechnum*.

Este trabajo se dedica por tanto a la búsqueda de rasgos que puedan ser reconocidos como sinapomórficos, de forma que permitan el apoyo morfológico de los clados identificados por técnicas moleculares en la familia Blechnaceae e intentar así comprender mejor cómo ha sucedido la especialización anatómica de las pinnas fértiles, en un sentido evolutivo, en la familia. Con el objeto de incluir la mayor variabilidad anatómica posible, que abarque a su vez un rango filogenético extenso, se ha ampliado la información anatómica disponible hasta la fecha (Palmer, 1997; Passarelli *et al.*, 2010; Prada *et al.*, 2016), de esta manera, con la inclusión de los siguientes géneros se representan el 75 % de la diversidad genérica de la familia: *Anchistea*, *Blechnopsis*, *Doodia*, *Lomaria*, *Lorinseria*, *Oceaniopteris*, *Saplichlaena*, *Stenochlaena* y *Woodwardia*.

OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo es el de estudiar aspectos desconocidos de la sistemática de la familia Blechnaceae (Polypodiopsida).

Se han elegido tres aspectos de estudio: El género *Lomaridium*, el género *Parablechnum* y la evolución de las pinnas fértiles, con los siguientes objetivos específicos:

- a) Dilucidar las relaciones filogenéticas de las especies del género *Lomaridium*.
- b) Estudiar la historia biogeográfica del género *Lomaridium*.
- c) Determinar si las especies integrantes del complejo *Parablechnum cordatum* son entidades diferentes.
- d) Caracterizar la diversidad anatómica de las pinnas fértiles en la familia.
- e) Estudiar la evolución de los caracteres de las pinnas fértiles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se trabajó con material obtenido en distintas recolecciones de campo, el material fresco se conservó en sílica gel hasta su uso y se guardó un ejemplar para herbario. También se obtuvo material de distintos ejemplares de herbario en CR, MA, MACB y UC (Holmgren *et al.*, 1990) en los casos en los que no se pudo contar con muestras de recolección reciente. De los ejemplares recolectados nuevos para este trabajo, se incluyó un pliego de referencia en el herbario del Jardín Botánico de Madrid (MA) o en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid (MACB). El material estudiado se encuentra detallado en el anexo I (referencias moleculares) y el anexo II (referencias de los pliegos).

Extracción de ADN, PCR y secuenciación

El ADN total se extrajo de material seco (20mg) usando un DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Se usó la técnica de PCR para amplificar tres regiones cloroplásticas (*trnL-trnF*, *rps4-trnS* y *rbcL*) [Fig. 8A], y los siguientes primers: *trnL-trnF* FERN1 (GGCAGCCCCCARATTCAGGGRAACC), *trnL-trnF* F (ATTTGAACTGGT-GACACGAG) [Fig. 8B; Taberlet *et al.*, 1991; Shepherd *et al.*, 2007]; *rps4-trnS* F (ATGAATTATTAGTTGTTGAG) y *rps4-trnS* R (TACCGGGGTTCGAATC) [Fig. 8C; Souza-Chies *et al.*, 1997; Li & Lu, 2006] y *rbcL* 1F (ATGTCAC-CACAAACGGAGACTAAAGC) y *rbcL* 1361R (TCAGGACTCCACTTACTA-GCTTCACG) [Fig. 8D; Schuettpelz & Pryer, 2007]. Todas las regiones han sido satisfactoriamente utilizadas en la evaluación previa de las relaciones de distintas especies de helechos incluyendo las Blechnaceae (Schneider *et al.*, 2004a; Juslén *et al.*, 2011; Perrie *et al.*, 2014).

Las condiciones de la reacción de PCR fueron como sigue: 1.25 U de polimerasa Taq (5U/ μ l), 2.5 μ l de buffer 10X (que incluye 15 mM de $MgCl_2$), 5 μ l de solución Q, 2.5 μ l de BSA (2.5 mg / μ l), 1.5 μ l de cada primer a 5 μ M, 0.5 μ l de dNTPs y agua destilada hasta alcanzar un volumen final de 25 μ l con 2 a 6 μ l de ADN de cada muestra.

Los protocolos de las PCR fueron los siguientes:

- trnL - trnF: 5m a 95°C (para activar la polimerasa), 35 ciclos de 35s a 94°C, 1m a 51°C, 1m30s a 72°C, seguidos de 8m a 72°C.
- rps4 - trnS: 5m a 95°C, 38 ciclos de 30s a 94°C, 40s a 42°C, 1m30s a 72°C, seguidos de 7m a 72°C.
- rbcL: 5m a 95°C, 35 ciclos de 45s a 94°C, 1m a 55°C, 1m a 72°C, seguidos de 10m a 72°C.

Los productos de la PCR fueron chequeados en gel de agarosa al 1% y almacenados a una temperatura de -20°C hasta su uso. Tras la purificación (Purification kit, Quiagen o usando el método enzimático con fosfatasa antártica) las muestras fueron secuenciadas en un ABI3730XL en un servicio externo de secuenciación (Macrogen Inc.).

Análisis moleculares

Se usó el software Geneious R6 [<http://www.geneious.com>, (Kearse *et al.*, 2012)] para editar y preparar las secuencias. Se generaron dos bases de datos para dichos análisis: A) La primera base de datos se utilizó para estudiar las relaciones dentro del género *Lomaridium*, usando para ello tres marcadores cloroplásticos: *trnL-trnF*, *rps4-trnS* y *rbcL*. Así, se estudiaron 47 secuencias correspondientes a 15 especies, de las cuales 38 secuencias son propias (81% del total de secuencias utilizadas). Como grupo externo para esta base de datos se incluyeron las siguientes especies de la familia Blechnaceae: *Austroblechnum mycrophyllum* (Goldm.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Icarus filiformis* (A.Cunn.) Gasper & Salino, *Parablechnum loxense* (Kunth) Gasper & Salino, *Struthiopteris spicant* (L.) F.W.Weiss y *Woodwardia radicans* (L.) Sm. (Anexos I y II). B) La segunda base de datos se usó para estudiar las relaciones entre las especies del género *Parablechnum*, usando los marcadores cloroplásticos *trnL-trnF*, *rps4-trnS* y *rbcL*. Como grupo externo para esta base de datos se ha incluido la especie *Lomariocycas schomburgkii* (Klotzsch) Gasper & A.R.Sm., también de la familia Blechnaceae. Así, se utilizaron 46 secuencias correspondientes a 10 especies, de las

cuales 25 secuencias son propias (54% del total de secuencias utilizadas) [Anexos I y II].

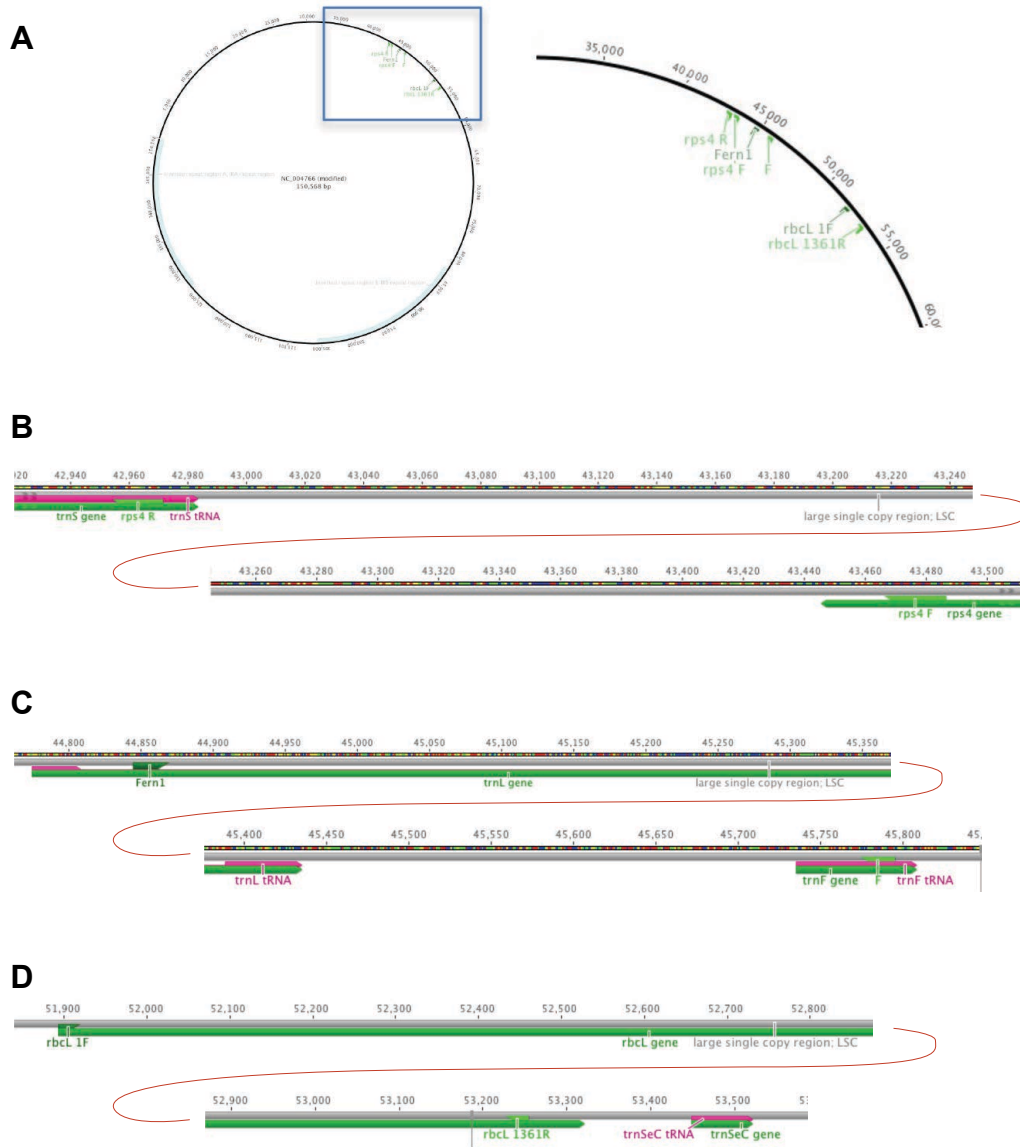


Figura 8. Representación esquemática de los marcadores moleculares cloroplásticos empleados en el presente trabajo: A) Localización general en el genoma cloroplástico, en la región de copia simple, entre los 43.000 y los 53.300 pares de bases, aproximadamente; en verde se indica el nombre de los primers. B-D. Marcadores anotados: B) *rps4-trnS*; C) *trnL-trnF*; D) *rbcl*. Realizado a partir de anotaciones en Geneious R.6.

Los alineamientos se realizaron utilizando el algoritmo ClustalW (Larkin *et al.*, 2007) con las siguientes condiciones: apertura de gap con un coste de 15 y extensión de gap con un coste de 6.

Se realizaron análisis de máxima verosimilitud (ML) y de inferencia bayesiana (BI). Las estimaciones del modelo evolutivo en los análisis se realizaron con jModelTest (Darriba *et al.*, 2012), para cada uno de los marcadores. Los análisis de ML se hicieron con MEGA 7.0.21 (Kumar *et al.*, 2016), y los de BI con MrBayes (Ronquist & Huesenbeck, 2003), utilizando los mejores modelos identificados para las distintas bases de datos con jModelTest y siguiendo las siguientes condiciones:

- a) ML: Se utilizó el método de búsqueda de topología NNI y un análisis de bootstrap para el apoyo de las ramas con 500 réplicas.
- b) BI: Múltiples cadenas (4), longitud de la cadena 5.100.100, longitud de calentamiento 100.000 y longitud de ramas no restringida.

Las secuencias fueron publicadas en GenBank; los números de referencia de cada secuencia están disponibles en el anexo indicado.

Dado que los marcadores cloroplásticos están típicamente unidos y se comportan como marcadores únicos y no recombinantes (Naumann *et al.*, 2011), y ya que en ambos casos (*Lomaridium* y *Parablechnum*) el modelo evolutivo seleccionado por jModelTest para cada marcador era el mismo para cada base de datos, en este trabajo los marcadores cloroplásticos fueron concatenados para cada base de datos, y fueron analizados de forma conjunta, (Nixon & Carpenter, 1996; Zhang *et al.*, 2012).

Se realizaron análisis de máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (BI). Dado que ambos análisis resultaron en topologías similares, se muestra un único árbol con el soporte estadístico de los dos análisis, como se hace habitualmente (Rothfels *et al.*, 2015; Gasper *et al.*, 2016a).

Análisis biogeográficos

Se realizaron análisis de datación molecular utilizando el software BEAST versión 2.3.2 (Drummond *et al.*, 2006; Drummond & Rambaut, 2007; Bouckaert *et al.*, 2014). La matriz de datos incluye un representante de cada especie y una especie de

Woodwardia (*Woodwardia radicans*), como grupo externo. La filogenia fue calibrada con un fósil asignado a *Woodwardia* (Wilf *et al.*, 1998) y la divergencia entre este género y la subfamilia Blechnoideae se restringió a una edad mínima de 55.8 millones de años basada en dicho fósil, usando una distribución lognormal. Se implementó y no correlacionó un modelo de reloj lognormal relajado, con un árbol de proceso nacimiento-muerte anterior y el mejor modelo de sustitución nucleotídica identificado para cada locus. El análisis se realizó para 20.000.000 de generaciones, salvando árboles cada 4,000 generaciones y salvándose otros parámetros cada 200 generaciones. La distribución posterior y el tamaño estimado de la muestra para todos los parámetros, se examinó usando la aplicación Tracer 1.6 (Drummond & Rambaut, 2007); se usó TreeAnnotator 2.3.2 (Bouckaert *et al.*, 2014) para combinar y sintetizar un conjunto de árboles post-burning y generar un cronograma de credibilidad de clado máxima para usar en los análisis de estimación de la distribución ancestral.

BioGeoBEARS (Matzke, 2014) se usó para estimar y comparar las distribuciones ancestrales bajo diversos modelos: DEC (dispersión-extinción-cladogénesis, Ree y Smith, 2008), DIVA-like (análisis de dispersión-vicarianza, Yu *et al.*, 2010) y BayArea-like (análisis bayesiano de biogeografía, Landis *et al.*, 2013). Cada modelo fue evaluado con, y sin el parámetro de dispersión de salto (j) disponible en BioGeoBEARS, llegando a un total de seis modelos. Los test de ratio de verosimilitud se usaron para identificar el modelo(s) que producía la distribución de ancestros más probable. El análisis se restringió temporalmente para acomodar algunas situaciones geográficas de datación conocida; en concreto, el archipiélago Juan Fernández tiene un origen volcánico estimado en 10 millones de años y por lo tanto no habría estado disponible como destino de dispersión hasta ese momento. Los parámetros de dispersión entre áreas geográficas se basaron en literatura relevante en la que se han realizado análisis similares en escalas temporales y espaciales similares (Sessa *et al.*, 2012; Spalink *et al.*, 2016).

Procedimientos para la obtención de datos anatómicos

Una parte del trabajo se basa en datos previamente publicados (Bower, 1914; Palmer, 1997; Passarelli *et al.*, 2010; Gasper *et al.*, 2016b; Prada *et al.*, 2016). Esta información abarca 15 géneros y las siguientes especies: *Austroblechnum divergens*

(Kunze) Gasper & V.A.O.Dittrich, *A. lherminieri* (Bory) Gasper & V.A.O.Dittrich, *A. microphyllum* (Goldm.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *A. penna-marina* (Poir.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Blechnidium melanopus* (Hook.) T.Moore, *Blechnum australe* L., *B. levigatum* Cav., *B. occidentale* L., *Brainea insignis* (Hook.) J.Sm., *Cleistoblechnum eburneum* (Christ.) Gasper & Salino, *Cranfillia sampaiiana* (Brade) Gasper & V.A.O.Dittrich, *C. sprucei* (C.Chr.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Diploblechnum fraseri* (A.Cunn.) De Vol, *Icarus filiformis* (A.Cunn.) Gasper & Salino, *Lomaridium acutum* (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *L. fragile* (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Lomariocycas moritziana* (Klotzsch) Vicent & Gabriel y Galán, *L. schomburgkii* (Klotzsch) Gasper & A.R.Sm., *L. tabularis* (Thunb.) Gasper & A.R.Sm., *Neoblechnum brasiliense* (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Parablechnum cordatum* (Desv.) Gasper & Salino, *P. loxense* (Kunth) Gasper & Salino, *P. proliferum* (Rosenst.) Gasper & Salino, *Sadleria cyatheoides* Kaulf., *Struthiopteris spicant* (L.) F.W.Weiss y *Telmatoblechnum serrulatum* (Rich.) Perrie, D.J.Ohlsen & Brownsey.

Para poder tener mayor representatividad de otros géneros de la familia se estudiaron anatómicamente las siguientes especies: *Anchistea virginica* (L.) C.Presl, *Blechnopsis orientalis* (L.) C.Presl, *Cranfillia opaca* (Mett.) Gasper & V.A.O.Dittrich, *Doodia caudata* (Cav.) R.Br., *Lomaria discolor* (G.Forst.) Willd., *Lomaria nuda* (Labill.) Willd., *Lorinseria areolata* (L.) C.Presl, *Oceaniopteris cartilaginosa* (Sw.) Gasper & Salino, *Oceaniopteris ciliata* (T.Moore) Gasper & Salino, *Saplichlaena thalassica* Grayum & R.C.Moran, *Stenochlaena tenuifolia* (Desv.) T.Moore y *Woodwardia radicans* (L.) Sm. (Anexo II).

Para analizar evolutivamente los caracteres de la familia Blechnaceae, se añadió como grupo externo la especie *Onoclea sensibilis* L., la cual fue también analizada anatómicamente.

Las observaciones se realizaron sobre material seco. Para los procedimientos de microscopía se atendieron las técnicas descritas en Gurr (1966) y Ruzin (1999). Las muestras se trataron con una solución de hidróxido sódico al 6% durante un mínimo de cinco minutos y un máximo de tiempo variable (10-20 minutos) en función de la rigidez del material, para ablandar los tejidos. Éstos se lavaron con agua para detener la reacción. A continuación se realizaron secciones transversales a mano alzada en la parte media de las pinnas; los cortes se sumergieron en una solución de hipoclorito sódico

comercial y agua destilada (1:1) para diafanizarlos (2-10 minutos), seguido de varios lavados con agua. Los cortes se tiñeron con azul de toluidina (TBO) al 0.1% acuoso. Este tinte colorea de color rosa a púrpura las paredes primarias de naturaleza péctica y de color verde, azul verdoso o azul brillante las paredes secundarias lignificadas (Prada *et al.*, 2016).

Para el estudio de la morfología epidérmica de los indusios, éstos se arrancaron con pinzas de punta fina del material ablandado y se colorearon de la misma forma que las secciones de pinnas. El análisis de los esporangios se llevó a cabo raspando los soros de las pinnas, previamente ablandadas y aclaradas, sobre una gota de colorante para analizar la forma de la cápsula, el número y forma de células del anillo y del área estomial, incluyendo epistomio e hipostomio, y las células de los labios que forman el estomio propiamente dicho, el pedicelo y las características de las células de la roseta (Rolleri *et al.*, 2012b; 2013). Se observaron un mínimo de 20 esporangios por especie para obtener los datos numéricos de células del anillo y de la zona estomial. También se observaron un mínimo de 20 esporas por especie para obtener las medidas del diámetro ecuatorial mayor referidas al exosporio y representadas en μm . Todas las observaciones se hicieron utilizando un microscopio óptico Nikon Eclipse Ci equipado con cámara digital DS-Fi2. La terminología usada se ha tomado de obras básicas, especialmente la relacionada con el esporangio en general, con el área estomial y con la terminología para estomas (Haider, 1954; Wilson, 1959; Font Quer, 1975; Prabhakar, 2004). Para otros términos se ha seguido a Lellinger (2002).

Análisis cladístico

Para el estudio cladístico de la evolución de las pinnas fértiles, se comenzó definiendo los caracteres de interés, identificando los estados en que pueden aparecer en los diferentes taxones, en función de la literatura previa (Pryer *et al.*, 1995; Johnson, 2005; Schneider *et al.*, 2009), ajustándolos en algún caso concreto a las particularidades de la familia Blechnaceae (Anexo III). Para ello se utilizaron datos extraídos de la literatura disponible (Bower, 1914; Giudice *et al.*, 2008; Passarelli *et al.*, 2010; Chambers, 2013; Prada *et al.*, 2016) y los datos anatómicos obtenidos para este trabajo. A continuación se construyeron dos matrices de datos: una primera matriz de 39 especies por un carácter (diferenciación foliar), ya que dicho carácter se pudo obtener

íntegramente de la bibliografía para todos los géneros de la familia, y una segunda matriz de 33 especies por 13 caracteres, para todos aquellos caracteres anatómicos que, a excepción de en los trabajos de Bower (1914) y Prada *et al.* (2016), no se encuentran disponibles en la literatura. En el Anexo IV se incluyen las dos matrices, en las que se puede observar el estado para cada carácter y especie.

Simultáneamente se obtuvieron dos árboles filogenéticos combinando la información obtenida en estudios recientes de filogenia en Blechnaceae (Gabriel y Galán *et al.*, 2013; Perrie *et al.*, 2014; Gasper *et al.*, 2016a), en los que se encuentran todas las especies incluidas en cada una de las matrices. El árbol se modificó para incluir la especie *Onoclea sensibilis* como grupo externo, dada la ya conocida posición filogenética de las Onocleaceae como el grupo hermano de las Blechnaceae (Sundue & Rothfels, 2014; Rothfels *et al.*, 2015; PPG1, 2016). Se empleó el software Mesquite 2.6 (Maddison & Maddison, 2009) para reconstruir los estados ancestrales por nodos, aplicando modelos de parsimonia de estados no ordenados y cualitativos (Sundue & Rothfels, 2014), obteniéndose un árbol por carácter estudiado. Para cada caso, se calculó mediante el software los pasos (cambios necesarios) y el índice de retención.

El índice de retención (r) es una relación de la sinapomorfía aparente en un carácter retenida como sinapomorfía en un árbol. Es por tanto una medida de la cantidad de homoplasias requeridas en la reconstrucción de la historia evolutiva de un carácter, o dicho de otra forma, este índice se puede usar para seleccionar o rechazar caracteres como mayoritariamente sinapomórficos o mayoritariamente homoplásicos. La fórmula para hallar r es la siguiente: $r = (g-s) / (g-m)$, siendo g el máximo número de cambios que el carácter puede necesitar en cualquiera de los posibles árboles, s el número de cambios requeridos para un carácter en el árbol considerado y m el mínimo número de cambios que el carácter puede necesitar en cualquiera de los posibles árboles. Así, si r se acerca a uno nos informa de que el carácter presenta cambios sinapomórficos y si se acerca a cero nos informa de que el carácter presenta cambios no sinapomórficos y por tanto se deben a homoplasias (Farris, 1989; Lipscomb, 1998).

Con objeto de estudiar si los caracteres pueden presentar fenómenos de co-evolución, se realizó una inspección visual enfrentando de dos en dos los árboles de los caracteres en el software Mesquite 2.6 (Maddison & Maddison, 2009).

RESULTADOS

Especies hemiepifíticas. Género *Lomaridium*

Una vez alineadas las secuencias, para la base de datos combinada (con las tres regiones cloroplásticas: *trnL-trnF*, *rps4-trnS* y *rbcL*) se obtuvo un total de 2.289 nucleótidos. jModelTest identificó HKY + G como el mejor modelo evolutivo para cada uno de los marcadores combinados.

El análisis de la base de datos que incluía una concatenación de las tres regiones cloroplásticas dio como resultado una topología altamente resuelta (Fig. 9). En este caso se corrobora la monofilia del género *Lomaridium*, con un apoyo de 100% bootstrap y una probabilidad posterior de 0.95.

Todas las ramas dentro del género *Lomaridium* aparecen con un alto apoyo estadístico, oscilando entre 90 y 100% de valor de bootstrap y entre 0.9 y 1 de probabilidad posterior.

Los análisis de datación molecular emplazan la primera divergencia, entre *Woodwardia radicans* (representando la subfamilia Woodwardioideae) y el resto de especies (que pertenecen a las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae) en 60 millones de años. El modelo DEC+j fue aquel de mejor resultado entre los modelos testados en BioGeoBEARS, a pesar de no ser significativamente mejor que DIVA-like+j o VayArea-like+i. Sin embargo, estos tres sí eran todos ellos significativamente mejores que aquellos que no incluyen el parámetro de dispersión por salto. Las reconstrucciones de los tres modelos con mejor resultado fueron prácticamente idénticas, excepto en las áreas ancestrales inferidas por los dos nodos más profundos del árbol y otro nodo. Las topologías resultantes de los análisis de BEAST y ML (Fig. 10) coinciden en todo a excepción de un clado: ambos obtienen un clado altamente apoyado entre los siguiente taxones outgroup: *Icarus filiformis*, *Parablechnum loxense* y *Austroblechnum microphyllum*, pero dentro de dicho clado las relaciones varían y están poco apoyadas estadísticamente. No obstante, esto no implica ningún impacto en nuestros análisis o interpretación de nuestros resultados.

Dentro del género se pueden reconocer cuatro clados. Primero, el linaje de *L. contiguum*, que contiene una única especie, *L. contiguum*. El segundo clado, apoyado por un 99% de valor de bootstrap y con 1 de probabilidad posterior, el clado de *L.*

schottii, que contiene dos especies: *L. schottii* y *L. angustifolium*. El resto de especies del género conforman un clado más grande que los anteriores con un 100% de valor de bootstrap y 1 de probabilidad posterior que se separa en dos clados internos. Por un lado el de *L. attenuatum*, apoyado por un valor de bootstrap de 90% y 0.99 de probabilidad posterior, que incluye a *L. attenuatum*, *L. simillimum* y a *L. biforme*, los dos últimos más cercanos evolutivamente hablando (95% valor de bootstrap y 0.99 de probabilidad posterior).

Por otro lado, el clado de *L. fragile*, con un valor de bootstrap del 100% y 1 de probabilidad posterior. Este es el clado más grande dentro del género. Este clado se separa de nuevo en dos ramas. Una, con un valor de bootstrap de 98% y 1 de probabilidad posterior, conteniendo a *L. fragile* y a *L. fuscusquamosum*, y el otro con 100% de valor de bootstrap y 1 de probabilidad posterior, en el que se encuentran *L. acutum*, *L. binervatum* y *L. ensiforme*.

Cuatro eventos de dispersión se han reconstruido para la historia de *Lomaridium* (Fig. 10). Se infiere que este género ha evolucionado en América central o Sur, con subsecuentes dispersiones a las islas Juan Fernández (*L. schottii*), el Caribe (*L. binervatum*), Nueva Caledonia (*L. contiguum*) y Madagascar-África (el clado de *L. attenuatum*).

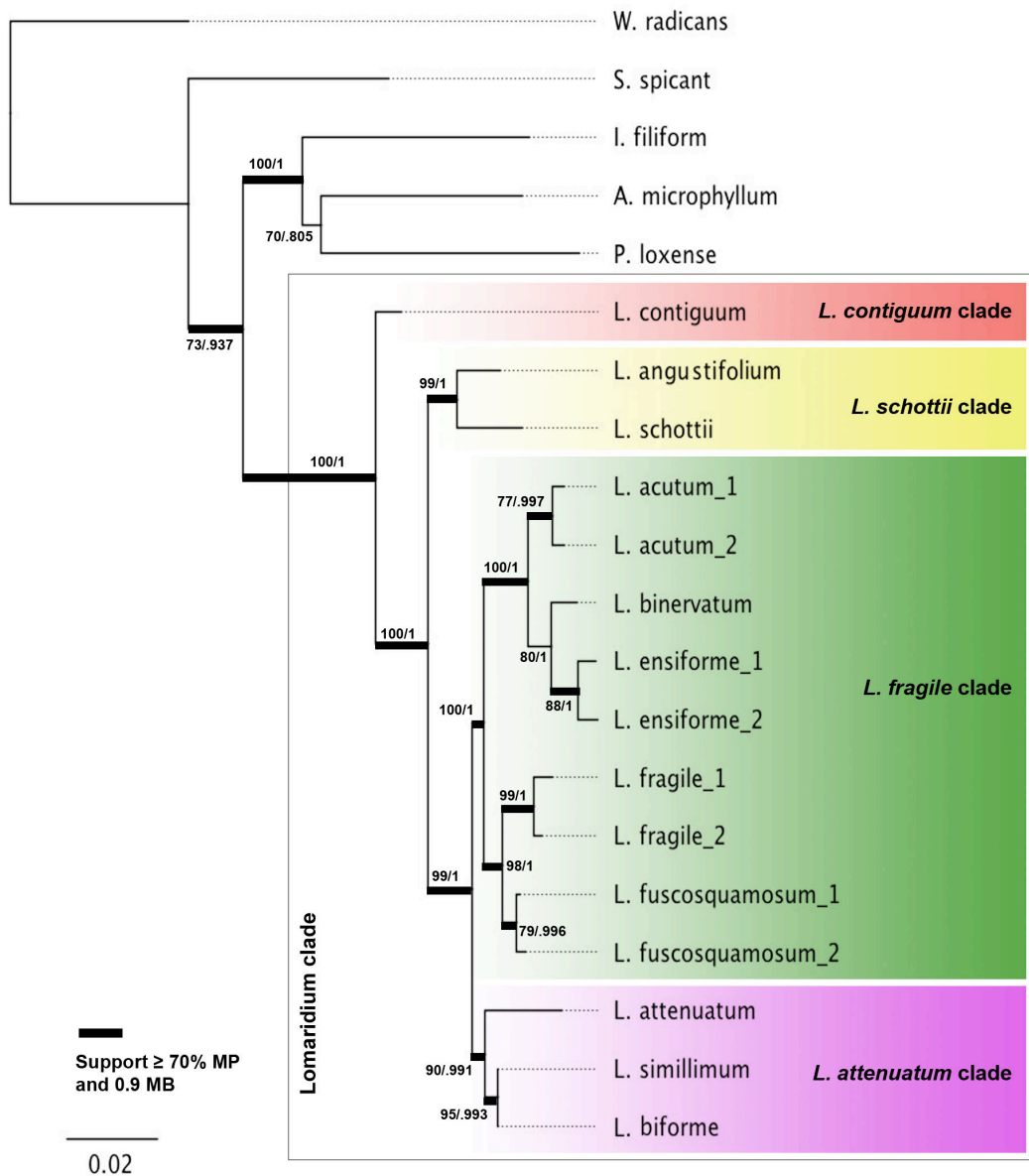


Figura 9. Filograma del género *Lomaridium*, representando 47 secuencias combinadas de *rps4-trnS*, *trnL-trnF* y *rbcL*. Los valores que acompañan las ramas son bootstrap y probabilidad posterior respectivamente. Las ramas con un apoyo de bootstrap $\geq 70\%$ y probabilidades posteriores ≥ 0.8 están remarcadas. Se pueden identificar cuatro linajes dentro del género: *L. contiguum*, y los clados de *L. schottii*, *L. fragile* y *L. attenuatum*, apoyados por altos valores de bootstrap y probabilidad posterior.

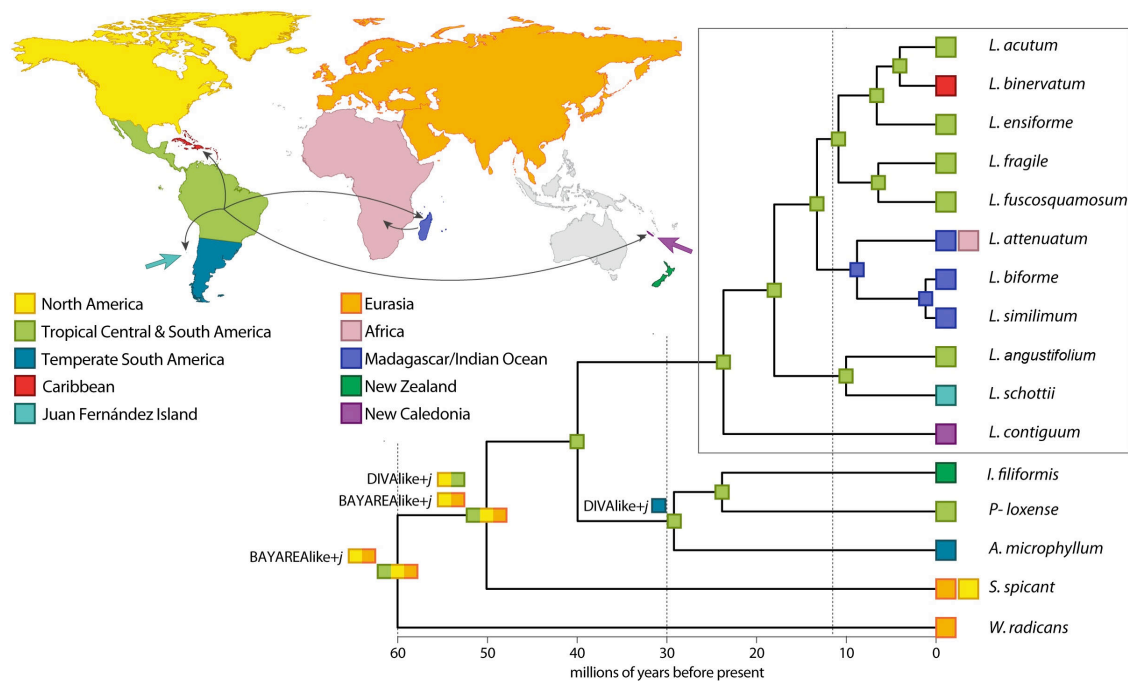


Figura 10. Datación molecular y estimación de la distribución ancestral para *Lomaridium*. Se muestra el cronograma del análisis BEAST, con la distribución actual de las especies indicada a la derecha y la reconstrucción de la distribución ancestral calculada en BioGeoBEARS mostrándose en los nodos internos. Los tres mejores modelos (DEC+j, DIVElike+j y BAYAREAlite+j) produjeron la misma reconstrucción para todos los nodos a excepción de tres, para éstos, la distribución producida por el mejor modelo (DEC+j, basada en tests de máxima verosimilitud) se muestra en el nodo, y los escenarios alternativos son compensados para el modelo(s) que difiere de él. El mapa se colorea de acuerdo con las distribuciones utilizadas y se infieren cuatro eventos de dispersión en *Lomaridium* (clado que se remarca por una caja en la filogenia) que se originan en las zonas tropicales de América Central y Sur, y que se muestran con flechas grises. Las líneas verticales de puntos que se muestran en la filogenia indican los intervalos de tiempo utilizadas en el análisis BioGeoBEARS.

Especies cordatoides. Género *Parablechnum* p.p.

Se alinearon y concatenaron las secuencias *trnL-trnF*, *rps4-trnS* y *rbcL* obteniendo un total de 2003 pb. jModelTest identificó HKY + I como el mejor modelo evolutivo para cada uno de los marcadores combinados.

El análisis de la base de datos que incluía una concatenación de las tres regiones cloroplásticas dio como resultado una topología altamente resuelta, si bien el de inferencia bayesiana presentaba una mejor resolución (Fig. 11). En este caso se

corroborar la monofilia del género *Parablechnum*, con un apoyo de 100% bootstrap y una probabilidad posterior de 1.

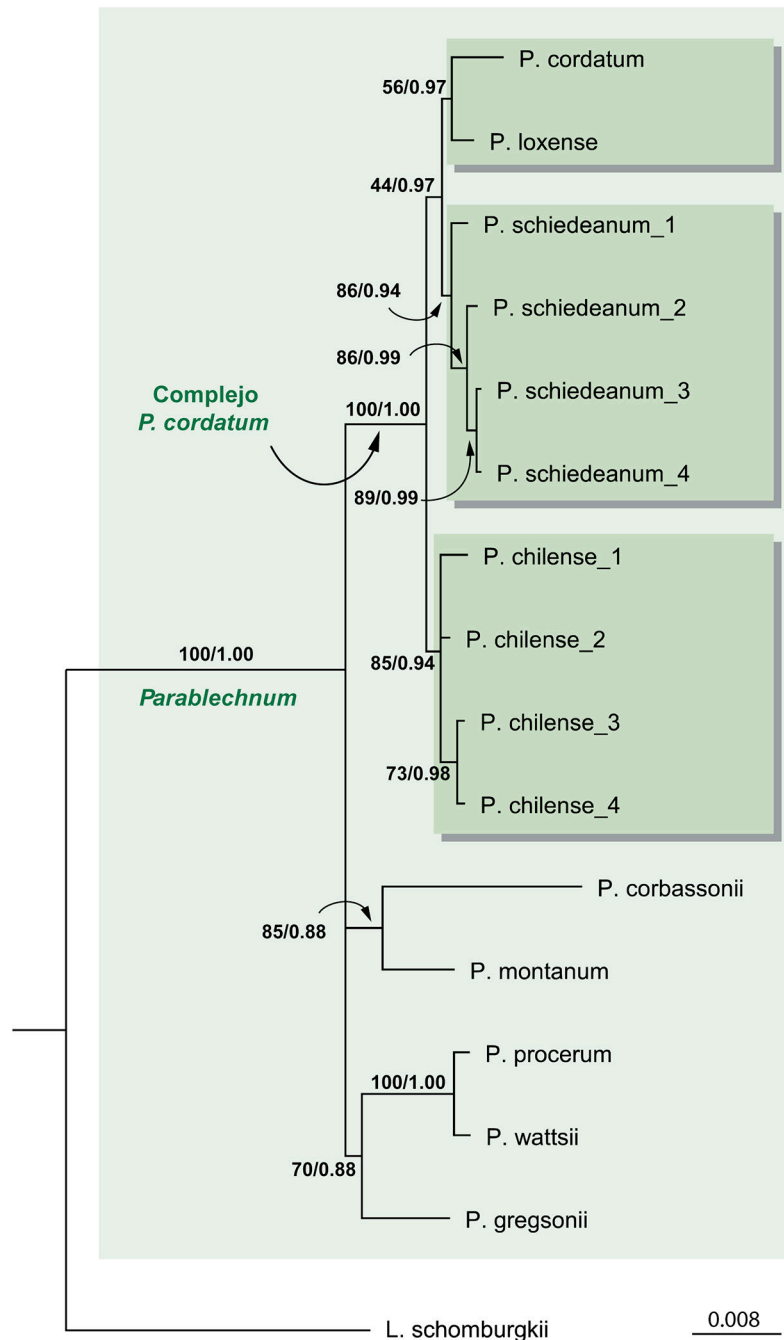


Figura 11. Filograma del género *Parablechnum*, representando 46 secuencias combinadas de *rps4-trnS*, *trnL-trnF* y *rbcL*. Los valores que acompañan las ramas son bootstrap y probabilidad posterior respectivamente. Se pueden identificar tres linajes dentro del complejo *P. cordatum*: *Parablechnum chilense*; *P. schiedeanum*; y *P. cordatum* y *P. loxense*, altamente apoyados estadísticamente.

Todas las ramas dentro del género *Parablechnum* aparecen con un alto apoyo estadístico, al menos, en una de las dos técnicas, oscilando entre 44 y 100% de valor de bootstrap y entre 0.88 y 1 de probabilidad posterior.

En el árbol se puede observar que en el clado del género *Parablechnum* hay una politomía basal de tres ramas: la primera incluye a las especies *P. gregsonii*, *P. procerum* y *P. wattsii*, con una probabilidad de 0.8803 y 70% de valor de bootstrap, las especies *P. procerum* y *P. wattsii* están agrupadas en un clado hermano a *P. gregsonii* apoyado con un 1 de probabilidad posterior y un bootstrap de 100%; la segunda rama incluye a las especies *P. montanum* y *P. corbassonii*, con una probabilidad de 0.8858 y un valor de bootstrap de 85%; la tercera rama, apoyada por un 1 de probabilidad posterior y 100% de valor de bootstrap, incluye a las especies restantes: *P. loxense*, *P. cordatum*, *P. schiedeanum* y *P. chilense*. Dentro de este último clado, hay una primera divergencia entre las cuatro muestras de *P. chilense*, que han sido agrupadas en un clado apoyado por un 0.942 de probabilidad posterior y 85% de valor de bootstrap, y el resto de especies que se agrupan en un clado apoyado por un 0.9777 de probabilidad posterior y un valor de bootstrap de 44%. Dentro de este último clado, las cuatro muestras de *P. schiedeanum* han sido agrupados en una rama apoyada por un 0.94 de probabilidad posterior y 86% de valor de bootstrap y las especies *P. cordatum* y *P. loxense* están asociadas en una rama apoyada con un 0.9757 de probabilidad posterior y un valor de bootstrap de 56%.

Evolución de las pinnas fértiles

1. Resultados anatómicos

En las especies estudiadas la porción expandida fotosintética de las pinnas fértiles tiene un desarrollo variable. Así, hay pinnas fértiles con láminas bien desarrolladas, planas, fotosintéticas, y otras con láminas de parcialmente a totalmente contraídas. En todas ellas se ha observado el perfil de la pinna, que varía de plana a curvada y el perfil de ambos lados de la costa: el adaxial oscila entre un perfil plano y uno surcado, mientras que el abaxial oscila entre un perfil plano, uno curvado y uno carinado (Fig. 12). En todas las especies de estudio se analizó el número de haces de la costa, habiendo especies que presentan 1 ó 2 haces, frente a otras que presentan más de

2 haces vasculares. A su vez, el xilema de los haces costales varía en su forma, habiendo especies con el xilema con forma de V, mientras que otras presentan un xilema recto (Fig. 12). Los modelos epidérmicos varían desde células casi isodiamétricas, con ondulaciones someras, a células sinuosas con ondas simples, a células sinuosas con ondas dobles (Fig. 13).

La mayoría de las especies estudiadas presentan soros continuos, o cenosoros, si bien cinco especies presentan soros discretos. En las pinnas fértiles de la mayoría de las especies estudiadas los receptáculos están bien definidos, con los esporangios situados en la axila del indusio, naciendo a lo largo de las venas comisurales; en algunas, sin embargo, los esporangios se producen además sobre la superficie abaxial de la estructura con función indusial, cubriendo una extensión variable de ésta, lo que hemos considerado como receptáculo extendido y que en algunas ocasiones se ha visto asociado a la presencia de venas de tipo diplodésmico (Fig. 12). El perfil de los receptáculos visto en sección transversal varía de plano a convexo (Fig. 12). En todas las especies estudiadas se ha encontrado una estructura con función indusial, a excepción de la especie *Stenochlaena tenuifolia* que es exindusiada; si bien en algunos casos, dicha estructura es tan compleja que prácticamente se puede considerar la propia lámina recurvada. En unos casos el indusio es delgado, típico, monostratificado en casi toda su extensión, y en otros el indusio está constituido por varias capas de células, perdiendo ese aspecto membranáceo que se suele asociar al indusio y dando lugar a lo que hemos denominado estructura indusial compleja (Fig. 12). El modelo epidérmico del indusio de las especies estudiadas también resultó diferente, habiendo pues modelos poligonales, subpoligonales y sinuosos (Fig. 14). Los esporangios son de tipo leptosporangio, con cápsulas esferoidales, de contorno circular o subcircular, o bien elipsoidales, de contorno elíptico u ovado. Algunas especies presentan cápsulas irregulares, angulosas. En la base de la cápsula hay un grupo de tres células, la roseta, diferenciadas de las que forman el pedicelo, que se tiñen como las células de la cápsula. Es frecuente que la cápsula se separe por rotura transversal de las células de la roseta. No hay diferencias notables en los esporangios a excepción del número de células del anillo, que muestra ser característico de cada especie (Fig. 14), de las características del estomio y la relación longitud/anchura de las células de la roseta (Fig. 15). Finalmente se encontraron distintos tipos esporales desde las que tienen el perisporio liso, adherido al exosporio (Tipo I), con glóbulos en algunas de las especies (Tipo VI), hasta las que

presentan el perisporio ornamentado, generalmente con pliegues irregulares que se elevan sobre el exosporio y que pueden tener elementos esculturales en la superficie (Tipo V), pasando por esporas que tienen un perisporio muriforme (Tipo VII) [Fig. 16].

***Onoclea sensibilis*:** Especie dimórfica. Costa adaxialmente plana y abaxialmente ligeramente curva, sin tejido de refuerzo diferenciado. Un haz vascular con xilema recto. Células epidérmicas, tanto del epifilo como del hipofilo, de paredes sinuosas, con ondas escasas, simples, someras en el epifilo (Fig. 13A), y más profundas en el hipofilo (Fig. 13B), de paredes delgadas, con algunos engrosamientos irregulares y una relación longitud/anchura de 1-2:1. Estomas anomocíticos y algunos diacíticos.

Esporangios en soros discretos sobre receptáculos prominentes, alargados, protegidos por un indusio de células poligonales con paredes delgadas. Cápsula de contorno irregular, con un anillo de 21-28 células, labio con 4 células, epistomio de 2-4 células e hipostomio de 2 ó 3 células. Pedicelos delgados, de 3 filas de células, en la base unidos lateralmente con los de los esporangios adyacentes. Roseta de 3 células largas. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 50 (57.5) 67.5 μm de longitud, con perisporio de superficie granuloso-equinulada, formando pliegues irregulares que se levantan 5-10 μm sobre el exosporio (Tipo V).

Las especies que presentaron pinnas con la lámina plana extendida son: *Anchistea virginica*, *Doodia caudata*, *Oceaniopteris cartilaginea*, *Salpichlaena thalassica* y *Woodwardia radicans*. Todas ellas presentan una lámina sin contraer y sin recurvar.

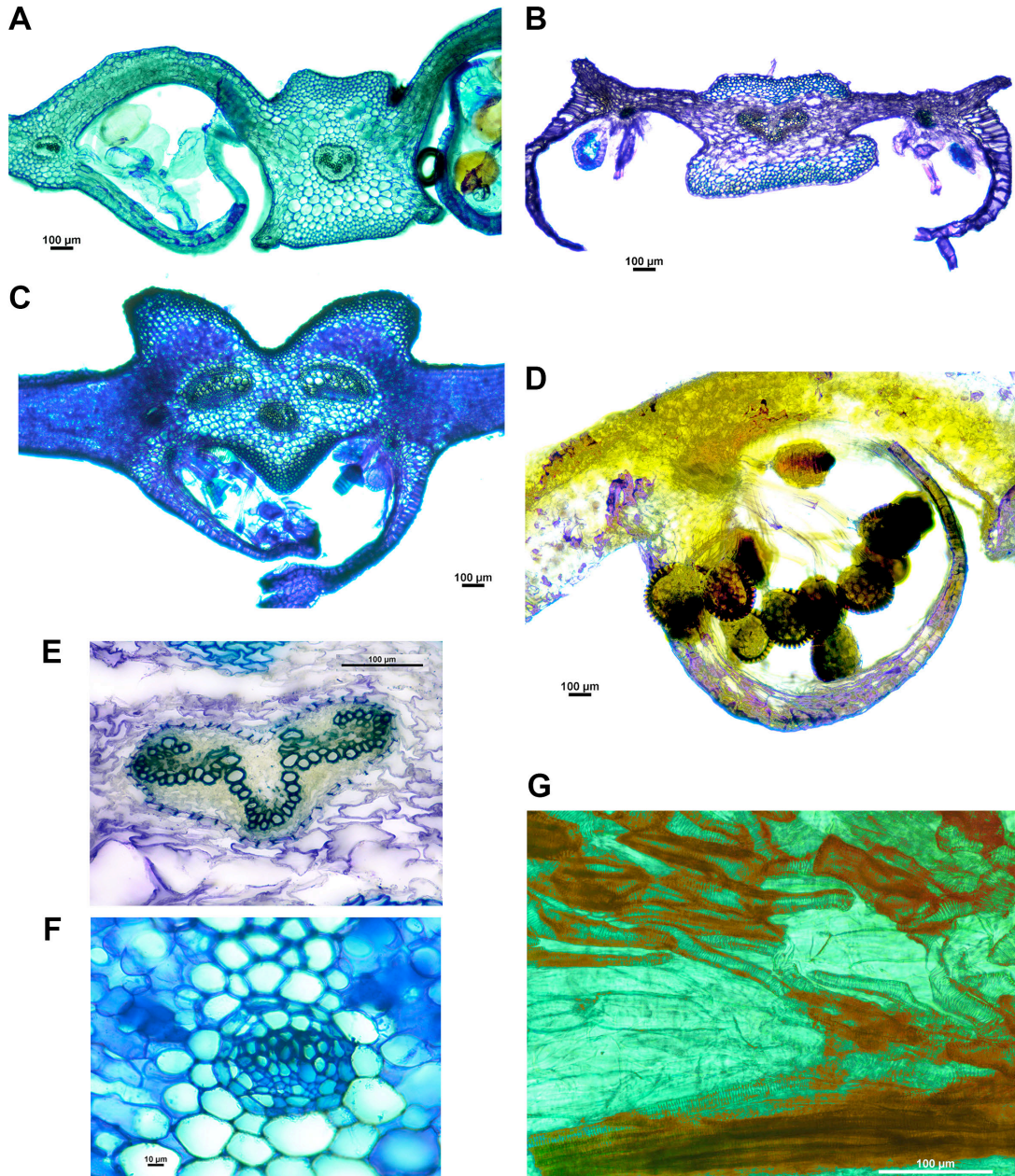


Figura 12. Perfiles de la pinna fértil, mostrando características del perfil adaxial y abaxial de la costa, del tipo de indusio, de la forma del receptáculo, el número de haces vasculares y la forma del xilema (A, B, C y D). Detalles de la forma del xilema en el haz vascular (E y F): A) *Woodwardia radicans* (pinna plana, perfiles tanto adaxial como abaxial de la costa planos, un haz vascular con xilema en V, estructura indusial simple y receptáculo plano); B) *Oceaniopteris ciliata* (pinna plana, perfiles tanto adaxial como abaxial de la costa planos, un haz vascular con xilema en V, estructura indusial compleja y receptáculo convexo); C) *Blechnopsis orientalis* (pinna plana, perfil adaxial de la costa surcado, perfil abaxial de la costa carinado, tres haces vasculares con xilema recto, estructura indusial compleja y receptáculo plano); D) Detalle del perfil de *Lorinseria areolata* en el que se muestra la estructura indusial compleja fuertemente arrollados; E) Haz vascular con xilema en forma de V rodeado de endodermis con banda de Caspary, *Oceaniopteris ciliata*; F) Haz vascular con xilema recto, *Anchistea virginica*; G) Venación diplodésmica, con las traqueidas resaltadas en color rojo falso; en la parte inferior se aprecia la vena comisural, de la que parten de trecho en trecho manojos desorganizados de traqueidas que extienden la zona esporangial hacia el margen, *Cranfillia opaca*.

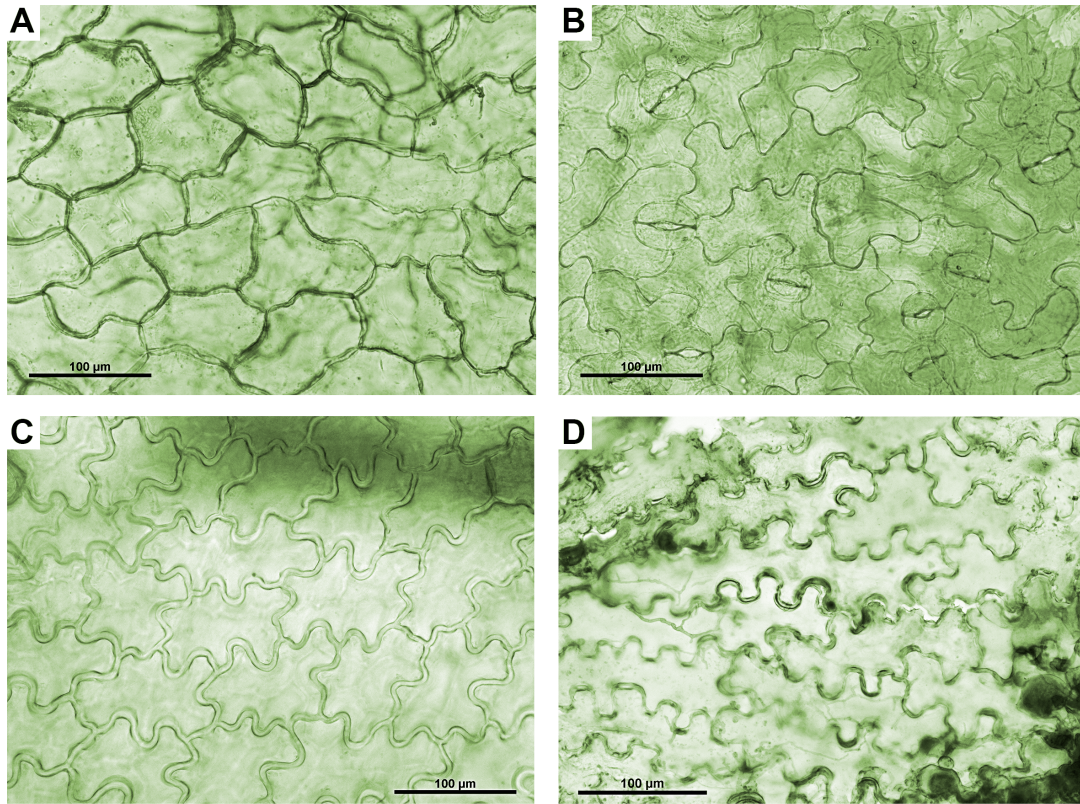


Figura 13. Modelos epidérmicos mostrados en las especies de estudio: A) Epidermis adaxial de *Onoclea sensibilis*, de células sinuosas con ondas someras; B) Epidermis abaxial de *Onoclea sensibilis*, las células son sinuosas con ondas someras y se observan estomas predominantemente anomocíticos; C) Epidermis con células sinuosas con ondas simples, *Lomaria nuda*; D) Epidermis con células sinuosas con ondas dobles, *Doodia caudata*.

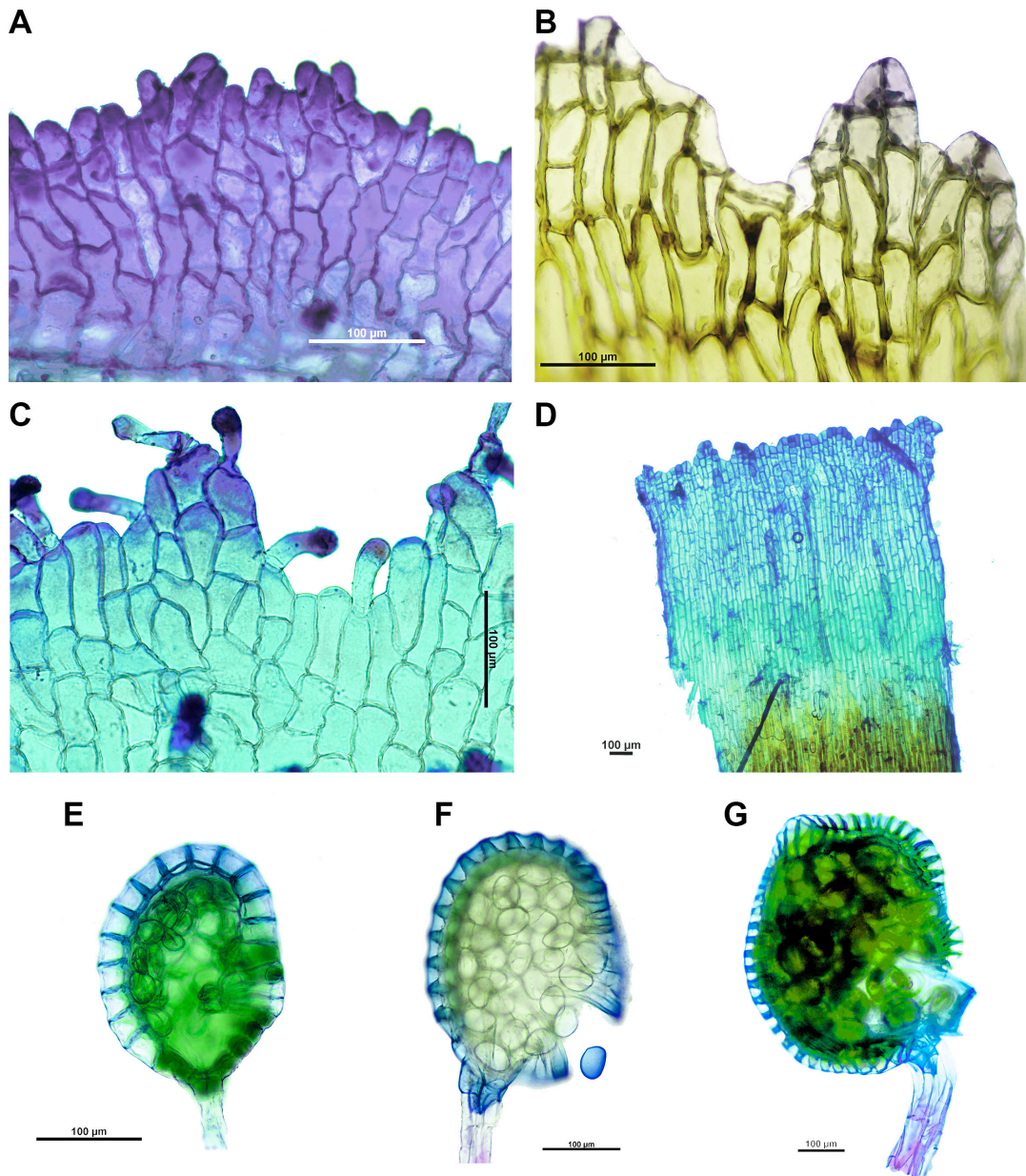


Figura 14. Modelos epidérmicos del margen de la estructura indusial (A, B, C y D). Tipos de esporangios por el número de células del anillo (E, F y G): A) Estructura indusial papilosa con células subsinuosas, *Oceaniopteris cartilaginea*; B) Estructura indusial erosa con células poligonales, *Lomaria nuda*; C) Estructura indusial glandulosa con células subsinuosas, *Anchistea virginica*; D) Estructura indusial erosa, con células poligonales, con base esclerosada, *Salpichlaena thalassica*; E) Esporangio con anillo de menos de 18 células, *Oceaniopteris cartilaginea*; F) Esporangio con anillo de 18-25 células, *Lomaria nuda*; G) Esporangio con anillo de más de 25 células, *Salpichlaena thalassica*.

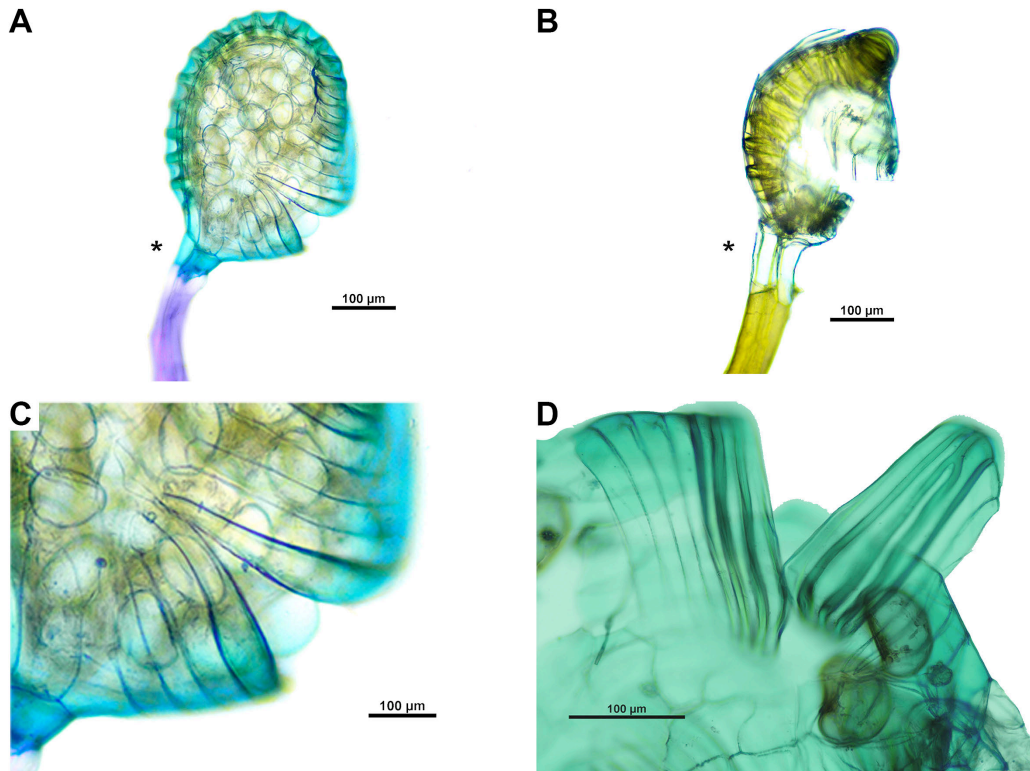


Figura 15. Tipos de rosetas en función de la longitud de sus células (A y B, marcado con *). Tipos de labios (C y D): A) Roseta de células cortas, *Lomaria nuda*; B) Roseta de células largas, *Cranfillia opaca*; C) Labio de dos células, *Lomaria nuda*; D) Labio de más de dos células, *Salpichlaena thalassica*.

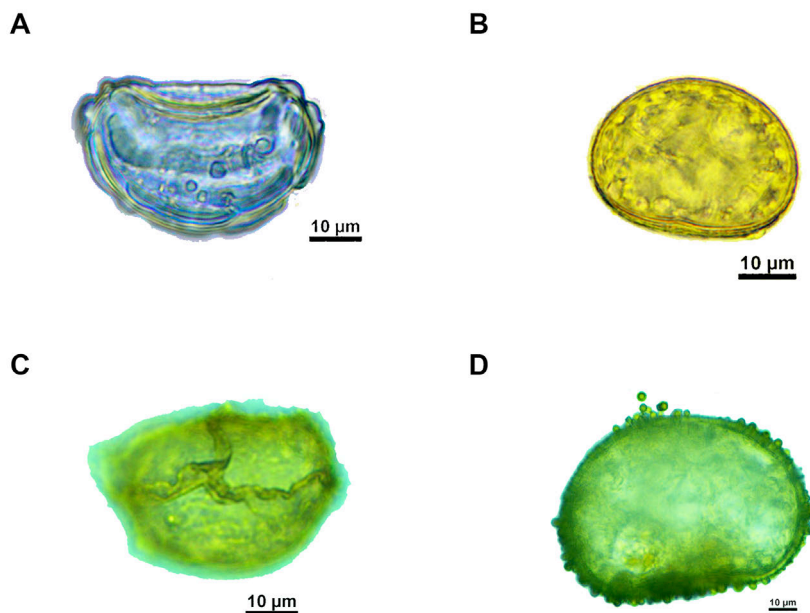


Figura 16. Tipos esporales de las especies estudiadas (A, B, C y D): A) Tipo VII (muriforme tuberculada), *Stenochlaena tenuifolia*; B) Tipo I (lisa o escasamente ornamentada), *Doodia caudata*; C) Tipo V (con retículo crestado, poligonal), *Lorinseria areolata*; D) Tipo VI (lisa con orbículos), *Salpichlaena thalassica*.

***Anchistea virginica*:** Especie monomórfica. Costas y cóstulas surcadas adaxialmente, planas o levemente curvadas abaxialmente, con un único haz con xilema recto y rodeado por una endodermis completa provista de banda de Caspary (Fig. 12F). En ambas caras presencia de tejido subepidérmico de refuerzo poco desarrollado, con 1 ó 2 capas de células de paredes engrosadas. Células epidérmicas sinuosas, con ondas simples y algunas dobles, profundas y regulares en el epifilo, en el hipofilo las ondas con frecuencia dobles y más irregulares. En ambos casos relación longitud/anchura de las células epidérmicas de 2-3:1 y sus paredes están uniformemente engrosadas. Frondas hipostomáticas, con estomas predominantemente anomocíticos y diacíticos. Presencia de pelos glandulosos unicelulares con el ápice ensanchado, globoso, por ambas caras de la lámina fotosintética.

Soros discretos, subcostales, con receptáculo definido, convexo, de oblongos a lineares, y normalmente nacen a ambos lados de la costa y las cóstulas, aunque cuando maduros parecen confluentes y acrosticoides. Soros protegidos por un indusio membranáceo, delgado y típico, que se encuentra en la zona subcostal. Éste consiste en 1 ó 2 capas de células subsinuosas en la parte basal, y de paredes rectas hacia el margen, que es eroso y provisto de pelos glandulosos unicelulares, capitados, similares a los que presenta la lámina foliar (Fig. 14C).

Esporangios con cápsula esférica, anillo de 11-16 células de paredes engrosadas, labio de 2-4 células, epistomio e hipostomio de 2 ó 3 células; pedicelo delgado con 3 hileras de células que remata en una roseta de células cortas. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 27.5 (33.12) 37.5 μm de longitud, perisporio plegado-alado de superficie granulosa, que se separa fácilmente del exosporio, del que se eleva 3-5 μm (Tipo V).

***Doodia caudata*:** Especie subdimórfica. Costas adaxial y abaxial curvas, con un único haz vascular con xilema recto y una endodermis completa provista de banda de Caspary. En ambas caras de la costa hay tejido subepidérmico de refuerzo, de 1 ó 2 capas de células. Células epidérmicas sinuosas, con ondas dobles, profundas e irregulares en epifilo e hipofilo, y relación longitud/anchura de 2-4:1; sus paredes irregularmente engrosadas, con espesamientos mayores en áreas localizadas de la pared (Fig. 13D). Frondas hipostomáticas, con estomas predominantemente diacíticos e isotricíticos.

Soros discretos, con receptáculo definido convexo; éstos aparecen en 2 filas, una a cada lado de las costas, y nacen en venas areolares. Los soros están protegidos por un indusio membranáceo, delgado y típico, formado por células ligeramente sinuosas e isodiamétricas en la zona basal y células rectangulares de paredes rectas formando 2-3 filas ordenadas perpendicularmente al margen, que es eroso.

Esporangios con cápsula de contorno elíptico, con un anillo de 9-14 células, sostenida por un pedicelo delgado de 3 hileras de células que remata abruptamente en una roseta de células más largas que anchas. Aparato estomial de 2 células de paredes engrosadas formando el labio, epistomio de 5 ó 6 células e hipostomio de 3 ó 4 células. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 30 (37.25) 50 μm de longitud, con la lesura prominente y perisporio delgado, adherido al exosporio, de superficie lisa (Tipo I: Fig. 16B).

***Oceaniopteris cartilaginea*:** Especie subdimórfica. Un haz vascular con forma de V, rodeado por una endodermis. La costa adaxial y abaxialmente plana, con tejido costal de sostén bien desarrollado formando 5 ó 6 capas de células en ambas caras. Epidermis adaxial y abaxial compuesta de células sinuosas de paredes irregularmente engrosadas, con ondas simples y dobles profundas e irregulares; la epidermis abaxial con estomas anomocíticos y diacíticos. En ambas epidermis relación longitud/anchura de las células de 2-3:1.

Soros lineares, subcostales, con receptáculo definido, a ambos lados de la costa, protegidos por un indusio delgado y típico, de margen papiloso, formado por células subsinuosas (Fig. 14A). Glándulas bicelulares en receptáculo y superficie externa del indusio.

Esporangios con cápsula de contorno elíptico, anillo de 13-17 células, sostenida por un pedicelo delgado de 3 hileras de células (Fig. 14E). Aparato estomial de 2-4 células de paredes engrosadas formando el labio, epistomio de 1-3 células e hipostomio de 3 ó 4 células. Roseta de 3 células cortas. Esporas de contorno subcircular en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 32.5 (38.5) 45 μm de longitud, con perisporio delgado, formando pliegues bajos e irregulares, con la superficie granulosa (Tipo V).

***Salpichlaena thalassica*:** Especie subdimórfica. Costa surcada adaxialmente y curva abaxialmente, con tejido costal de sostén bien desarrollado formando 3-5 capas de células de paredes lignificadas en ambas caras, con 3 haces vasculares con xilema recto. Epidermis adaxial y abaxial compuesta de células sinuosas con ondas simples y dobles profundas e irregulares; epidermis abaxial con estomas predominantemente diacíticos, algunos isotricíticos. Células epidérmicas con paredes irregularmente engrosadas; relación longitud/anchura de 2-3:1 en ambas superficies.

Cenosoros sobre receptáculos definidos, convexos, situados cerca de la costa, protegidos por indusios complejos enrollados sobre el cenosoro, formados por células poligonales; la mitad basal del indusio tiene las células externas esclerosadas, mientras que la mitad superior tiene las células de paredes delgadas y forman un margen eroso (Fig. 14D).

Esporangios con cápsula de contorno irregular, con un anillo que recorre casi todo el esporangio, algo desviado de la posición vertical en el extremo distal de la cápsula, de 32-37 células (Fig. 14G), y sostenida por un pedicelo delgado de 3 ó 4 hileras de células. Aparato estomial de 6-8 células de paredes engrosadas formando el labio (Fig. 15D), epistomio de 4 ó 5 células e hipostomio de 4 células. Roseta formada por 3 células cortas. Esporas de contorno elíptico en vista polar, cóncavo-convexas en vista ecuatorial, de 77.5 (87.5) 97.5 μm de longitud, con perisporio delgado adherido al exosporio, con abundantes glóbulos de distribución irregular por toda la superficie (Tipo VI: Fig. 16D).

***Woodwardia radicans*:** Especie monomórfica. Costa ligeramente surcada en la cara adaxial y plana abaxialmente, con tejido de sostén formado por 3 ó 4 capas de células de paredes escasamente engrosadas en ambas caras. Un único haz costal con xilema en V, rodeado por endodermis (Fig. 12A). A lo largo de la costa y cóstulas las venas se anastomosan formando areolas regulares. Células epidérmicas del epifilo sinuosas, con ondas dobles y simples; las del hipofilo sinuosas con ondas dobles, irregulares y profundas. Estomas mayoritariamente diacíticos, algunos isotricíticos. En ambas epidermis células con paredes uniformemente espesadas y relación longitud/anchura de 2-3:1.

Soros discretos, con el receptáculo definido, plano, hundidos en las areolas costulares. Soros protegidos por un indusio membranáceo, delgado, típico (Fig. 12A),

de células subsinuosas salvo las terminales que son rectangulares y dan lugar a un margen eroso.

Esporangios con cápsula piriforme, anillo de 14-23 células, labio de 2 células, epistomio de 5 ó 6 células e hipostomio 4 ó 5 células. Pie delgado, con 3 hileras de células y rematado en una roseta corta. Esporas reniformes, de 40 (45.5) 50 μm de longitud, con el perisporio formando pliegues bajos y largos de superficie granuloso-equinulada (Tipo V).

Las especies estudiadas que presentan pinnas contraídas, con un indusio complejo son las siguientes: *Blechnopsis orientalis*, *Lorinseria areolata* y *Oceaniopteris ciliata*.

***Blechnopsis orientalis*:** Especie monomórfica. La costa presenta un profundo surco adaxial, mientras que abaxialmente es carinada. En ambas caras el tejido costal de refuerzo está bien desarrollado, con 4 ó 5 capas de células de paredes gruesas en la cara adaxial y 8-10 en la abaxial. Costa con 3 haces vasculares concéntricos con xilema recto, rodeados por endodermis, los 2 adaxiales de mayor tamaño que el abaxial (Fig. 12C). Células epidérmicas, tanto las adaxiales como las abaxiales, sinuosas, con ondas simples profundas y regulares. Epidermis abaxial con estomas isotricíticos, anomocíticos y diacíticos. En ambas epidermis las células tienen las paredes uniformemente engrosadas y su relación longitud/anchura es de 2-3:1.

Esporangios agrupados en cenosoros lineares a ambos lados de la costa, protegidos por indusios complejos subcostales de células poligonales más o menos isodiamétricas y margen ligeramente eroso. Receptáculo definido y plano (Fig. 12C). Esporangios con cápsula de contorno elíptico, anillo de 20-27 células, labio formado por 2 células, epistomio de 4 ó 5 células e hipostomio de 2 ó 3 células. Pie delgado, con 3 hileras de células y roseta formada por 3 células cortas. Esporas plano-convexas en vista ecuatorial, con la lesura sobresaliente, de 25 (32.5) 40 μm de longitud. Perisporio delgado, con pliegues estrechos que se elevan 5-10 μm por encima del exosporio y superficie granulosa (Tipo V).

***Lorinseria areolata*:** Especie dimórfica. Costa plana tanto adaxial como abaxialmente, fuertemente estrechada y algo acanalada en la cara abaxial. Un único haz

vascular concéntrico con xilema recto y sin tejido costal de refuerzo. Epidermis formada por células sinuosas, con ondas simples y dobles, éstas más frecuentes en la cara abaxial. Estomas predominantemente diacíticos, algunos isotricíticos. Las células epidérmicas tienen las paredes irregularmente engrosadas, y relación longitud/anchura de 1-2:1 en el epifilo y 1-3:1 en el hipofilo.

Venas formando series regulares de 2 o más filas de areolas entre la costa y el margen en las pinnas fértiles. Soros discretos, con un receptáculo definido, y profundamente hundidos en la lámina, confinados a las areolas costales. Soros protegidos por un indusio complejo de células poligonales y margen eroso, que llega a rodear completamente el soro, prácticamente cerrándose sobre sí mismo (Fig. 12D). Esporangios globosos, anillo de 19-24 células, labio de 4-8 células, epistomio de 3 ó 4 células e hipostomio de 2 ó 3 células. Pedicelo delgado con 3 hileras de células y roseta formada por 3 células alargadas. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 45 (48.5) 52.5 μm de longitud. Perisporio delgado, con pliegues bajos irregulares y superficie lisa (Tipo V: Fig. 16C).

***Oceaniopteris ciliata*:** Especie dimórfica. Costa plana tanto adaxial como abaxialmente (Fig. 12B), con un haz vascular con el xilema en V, rodeado por endodermis (Fig. 12E) y 5-7 capas de células costales de sostén en ambas caras. Células epidérmicas de paredes sinuosas, con ondas simples, curvas, someras en el epifilo, y bastante más profundas y angulosas en el hipofilo, en ambos casos con espesamientos irregulares, mayores en las curvas o ángulos. Relación longitud/anchura de 1-2:1. Estomas escasos, anomocíticos.

Cenosoros con receptáculo definido y convexo, protegidos por un indusio complejo (Fig. 12B) de células poligonales y margen inciso, situado muy próximo al margen de la pinna. Esporangios con cápsula de contorno elíptico, anillo de 18-24 células, labio prominente de 2 células, epistomio de 3 ó 4 células e hipostomio de 3-5 células. Pedicelo delgado y roseta de 3 células cortas. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 32.5 (38.5) 50 μm de longitud, con la lesura prominente. El perisporio forma una capa compacta, delgada y frágil, de superficie granulosa (Tipo I).

Las especies estudiadas que presentaron una lámina contraída y recurvada son las siguientes: *Cranfillia opaca*, *Lomaria discolor*, *L. nuda* y *Stenochlaena tenuifolia*.

***Cranfillia opaca*:** Especie dimórfica. Costa curva tanto adaxial como abaxialmente, con 2 haces vasculares concéntricos rodeados por endodermis y por una vaina de células esclerosadas. Tejido costal de refuerzo formado por 4 ó 5 capas de células. Epidermis adaxial de células alargadas, de paredes irregularmente engrosadas y algo sinuosas, con ondas regulares, someras, simples. Epidermis abaxial con células de paredes sinuosas, con ondas más frecuentes y menos profundas que en la cara adaxial, provista de estomas diacíticos. Relación longitud/anchura en ambas de 2-4:1.

Cenosoros protegidos por una estructura con función indusial de células poligonales y margen eroso. Esporangios en receptáculos extendidos desde cerca de la costa hacia el margen de la estructura con función indusial, asociados a venación diplodésmica (Fig. 12G). Cápsulas ovoides, anillo de 13-17 células, algo desviado de la posición vertical en el extremo distal del mismo, labio de 2 células, epistomio de 2-4 células e hipostomio de 2 ó 3 células. Pedicelos gruesos y roseta formada por 3 células alargadas (Fig. 15B). Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 35 (42.5) 50 μm de longitud, con la lesura ligeramente sobresaliente. Perisporio con pliegues largos e irregulares, anastomosados, que se elevan 5-10 μm por encima del exosporio (Tipo V).

***Lomaria discolor*:** Especie dimórfica. Costa ligeramente asurcada adaxialmente y curva abaxialmente, con 7 u 8 capas de células de sostén localizadas en la parte central de ambas caras, y que en la adaxial se extienden hacia el haz costal, éste rodeado de endodermis y con el xilema en V. Epidermis de células sinuosas, con ondas simples profundas en el epifilo, mientras que en el hipofilo las ondas son curvas y angulosas, menos profundas y algo irregulares. Relación longitud/anchura de las células epidérmicas de 1-2:1, las paredes están uniformemente engrosadas y los estomas son predominantemente anomocíticos.

Cenosoros protegidos por una estructura compleja con función indusial, formada por células poligonales que rematan en un margen eroso. Receptáculo extendido. Los esporangios se forman sobre una superficie variable que va desde la vena comisural hasta casi la mitad de la estructura indusial. Esporangios con cápsula ovoide, anillo de 15-24 células, labio de 2-4 células de paredes engrosadas, epistomio de 3-6 células e

hipostomio de 3-5 células. Pedicelo grueso, formado por 3-5 hileras de células, con roseta de 3 células cortas. Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 42.5 (49.5) 55 μm de longitud, con perisporio de superficie finamente granulosa formando pliegues estrechos e irregulares que se elevan 5-10 μm por encima del exosporio (Tipo V).

***Lomaria nuda*:** Especie dimórfica. Costa ligeramente surcada en la cara adaxial y curva en la abaxial, con 6-8 capas de células de refuerzo que se extienden desde ambas superficies hasta el haz costal, que es único y con xilema recto. Células epidérmicas sinuosas, con ondas simples curvas profundas e irregulares en ambas caras (Fig. 13C). Relación longitud/anchura de las células epidérmicas de 1-2:1, las paredes uniformemente engrosadas y estomas, que aparecen en la cara abaxial, isotricíticos y anomocíticos.

Cenosoros protegidos por una estructura indusial compleja, que se hace monostrata, con células poligonales en el margen eroso (Fig. 14B). Esporangios que nacen en receptáculos extendidos, y con cápsulas de contorno elíptico, anillo de 16-20 células (Fig. 14F), labio de dos células (Fig. 15C), epistomio de 4 ó 5 células e hipostomio de 3-5 células. Pedicelo delgado, formado por 3 ó 4 hileras de células y roseta de 3 células cortas (Fig. 15A). Esporas elípticas en vista polar, plano-convexas en vista ecuatorial, de 40 (47) 52.5 μm de longitud, con perisporio delgado formando pliegues estrechos e irregularmente anastomosados (Tipo V).

***Stenochlaena tenuifolia*:** Especie dimórfica. Costa con un leve surco adaxial, mientras que la superficie abaxial de la costa es curva, en ambas superficies con 1 ó 2 capas de células de refuerzo. Un único haz costal, con el xilema recto. Epidermis de células sinuosas, con ondas irregulares simples y dobles, más profundas en el hipofilo, con relación longitud/anchura de 2-4:1 y paredes escasa e irregularmente engrosadas. Estomas isotricíticos, diacíticos y ocasionalmente desmocíticos.

Esporangios agrupados en cenosoros, sobre receptáculos algo extendidos, protegidos solo por el margen de la pínula que se recurva sobre ellos, como un pseudoindusio. Cápsula más bien esférica, anillo de 12-16 células, labio de 2 células, epistomio de 2-4 células e hipostomio de 4 ó 5 células. Pedicelo delgado, formado por 3 hileras de células que rematan en una roseta de células largas. Esporas elípticas en vista polar, cóncavo-convexas en vista ecuatorial, de 42.5 (47) 50 μm de longitud, con

prominentes pliegues interrumpidos gruesos y obtusos, que recorren longitudinalmente la espora (Tipo VII: Fig. 16A).

2. Análisis cladístico

Los resultados de la reconstrucción de los estados ancestrales de cada carácter nos permiten analizar la historia evolutiva más probable de cada uno de ellos. Así pues, partiendo de los datos que se muestran en el anexo IV se obtuvieron los cladogramas que se analizan a continuación.

En el cladograma para el carácter **diferenciación foliar** (Fig. 17A) se puede observar que el estado ancestral para la familia Blechnaceae, incluso para el ancestro común entre Blechnaceae y Onocleaceae es el dimorfismo. Además, el dimorfismo es el estado que se mantiene en la mayoría de los clados, si bien subdimorfismo y monomorfismo, como estados derivados, han aparecido en varios linajes: a) Monomorfismo: Aparece en el clado *Anchistea* + *Woodwardia*, de la subfamilia Woodwardioideae; en *Telmatoblechnum*, de la subfamilia Stenochlaenoideae; y en la subfamilia Blechnoideae en los géneros *Sadleria*, *Blechnopsis*, *Blechnum*, *Neoblechnum* y en la especie *Parablechnum loxense*. b) Subdimorfismo: Aparece también de manera independiente, en clados con una mayoría de géneros bien monomorfos (caso de *Salpichlaena*), o bien dimorfos (caso de *Cleistoblechnum*). El clado más variable para este carácter es el de *Neoblechnum* (monomorfo, como ya se ha dicho) + *Doodia* (subdimórfica) + *Oceaniopteris* (con especies dimórficas -*O. ciliata*- y subdimórficas -*O. cartilaginea*-). Se han necesitado doce pasos para reconstruir la historia evolutiva de este carácter, que coinciden con el paralelismo de los clados monomórficos y subdimórficos. Este carácter tiene un índice de retención (r) de 0.29.

En el árbol del **perfil de la pinna** (Fig. 17B) se observa que el carácter ancestral de la familia Blechnaceae es un perfil de pinna plana. Este estado es mayoritario en toda la familia a excepción de *Stenochlaena tenuifolia*, *Cranfillia sampaioana* y todas las especies estudiadas de *Austroblechnum*, que presentan pinnas con perfil curvado. La historia evolutiva de este carácter se ha reconstruido en cuatro pasos, que coinciden con la convergencia evolutiva de la aparición de la pinna curvada en los taxones ya nombrados. El $r=0.5$ para este carácter.

En la reconstrucción del carácter **perfil adaxial de la pinna** (Fig. 17C) se puede observar que, para las Blechnaceae, el estado ancestral para este carácter es un perfil adaxial surcado. El estado perfil adaxial de la costa curvado aparece en los taxones: *Cranfillia opaca*, *Austroblechnum lherminieri* y *Doodia caudata*. Aparece también un perfil adaxial de la costa plano en los taxones *Oceaniopteris* y *Neoblechnum brasiliense*. El género *Cranfillia* es el que muestra más variabilidad en cuanto a este carácter dado que dos de sus especies presentan el estado surcado (*Cranfillia sampaioana* y *C. sprucei*), mientras que, como ya se ha dicho, *C. opaca* presenta el estado curvado. El género *Austroblechnum* también muestra una divergencia entre *A. lherminieri* (estado curvado) y el resto de especies del género. Se han necesitado cinco pasos para resolver la historia evolutiva de este carácter y su $r=0.4$.

En el cladograma en el cual se reconstruye el carácter **perfil abaxial de la pinna** (Fig. 17D) se puede observar que el estado ancestral para Blechnaceae es un perfil abaxial carinado. Este estado deriva a curvado en el nodo compartido por el género *Lomaria* y el resto de géneros de la subfamilia Blechnoideae de la familia Blechnaceae (quedando fuera, y por tanto con perfil abaxial carinado, los géneros *Lomaridium*, *Blechnopsis* y *Struthiopteris* de dicha subfamilia). La única especie dentro del clado que surge desde *Lomaria* que no presenta el estado perfil abaxial curvado es *Oceaniopteris ciliata*, que presenta un perfil abaxial plano. Por otro lado, los géneros de la subfamilia Stenochlaenoideae de la familia Blechnaceae comparten el estado derivado perfil abaxial curvado, mientras que los géneros de la subfamilia Woodwardioideae de la familia Blechnaceae comparten el estado derivado perfil abaxial plano. Para la reconstrucción de la historia evolutiva de este carácter han sido necesarios cuatro pasos y su $r=0.71$.

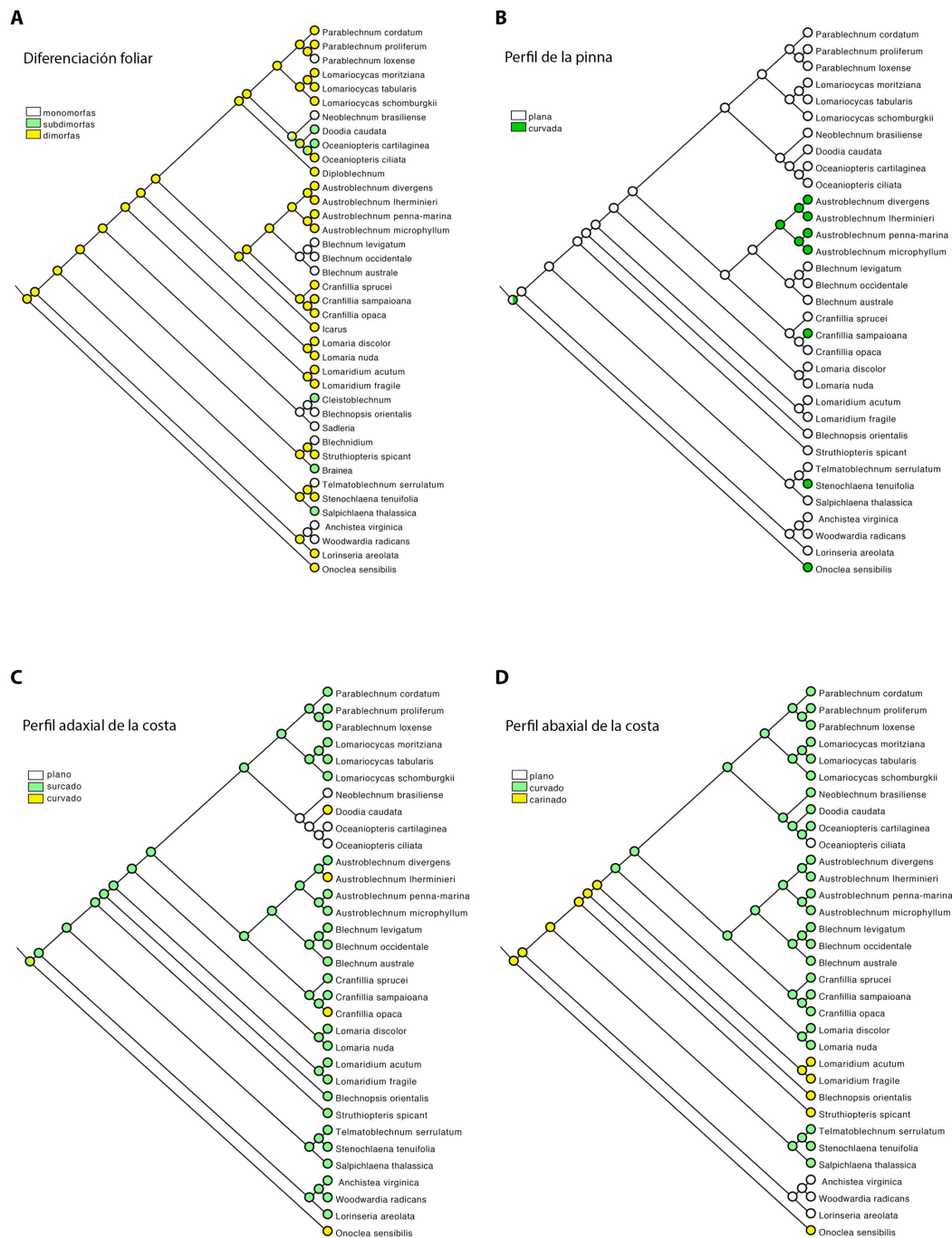


Figura 17. Cladogramas mostrando la reconstrucción de la evolución de los siguientes caracteres, en todos ellos se muestra una leyenda con la relación de los estados de cada carácter con el color asignado para cada uno de ellos: A) Diferenciación foliar; B) Perfil de la pinna; C) Perfil adaxial de la costa; D) Perfil abaxial de la costa.

En el árbol del **número de haces de la costa** del último segmento (Fig. 18A) se observa que el estado ancestral para la familia Blechnaceae es tener 1 ó 2 haces vasculares. El estado más de 2 haces aparece en varias ocasiones independientes, habiendo una convergencia evolutiva entre los siguientes taxones: *Salpichlaena thalassica*, *Blechnopsis orientalis*, todas las especies estudiadas del género *Blechnum* y todas las especies estudiadas del género *Parablechnum*. El cladograma se obtiene en cinco pasos y su $r=0.5$.

En el árbol en el cual se reconstruye el carácter **forma del xilema de la costa** (Fig. 18B) se puede observar que el estado ancestral para Blechnaceae es una forma recta. El estado forma en V aparece de forma independiente en los siguientes taxones: *Woodwardia radicans*, *Telmatoblechnum serrulatum*, *Lomaria discolor*, y por último aparece en todos los representantes estudiados de los géneros *Lomariocycas*, *Oceaniopteris* y *Neoblechnum*, en este caso estando sin resolver el nodo en el cual dicho estado aparece y por tanto si es un evento único común para los tres clados, o si son eventos independientes entre sí. En el caso de haber sido un evento único común para los tres clados, la aparición del estado forma recta para el género *Parablechnum* implicaría una reversión al estado ancestral del carácter. La historia evolutiva de este carácter se reconstruye en seis pasos y su $r=0.37$.

En la reconstrucción del carácter **tipo de soro** (Fig. 18C) se observa que para el conjunto de la familia el carácter ancestral es tener el soro discreto. En las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae surge el estado derivado cenosoro. El estado soro discreto revierte en el taxón *Doodia caudata*. La historia evolutiva de este carácter se reconstruye en únicamente dos pasos y tiene un $r=0.75$.

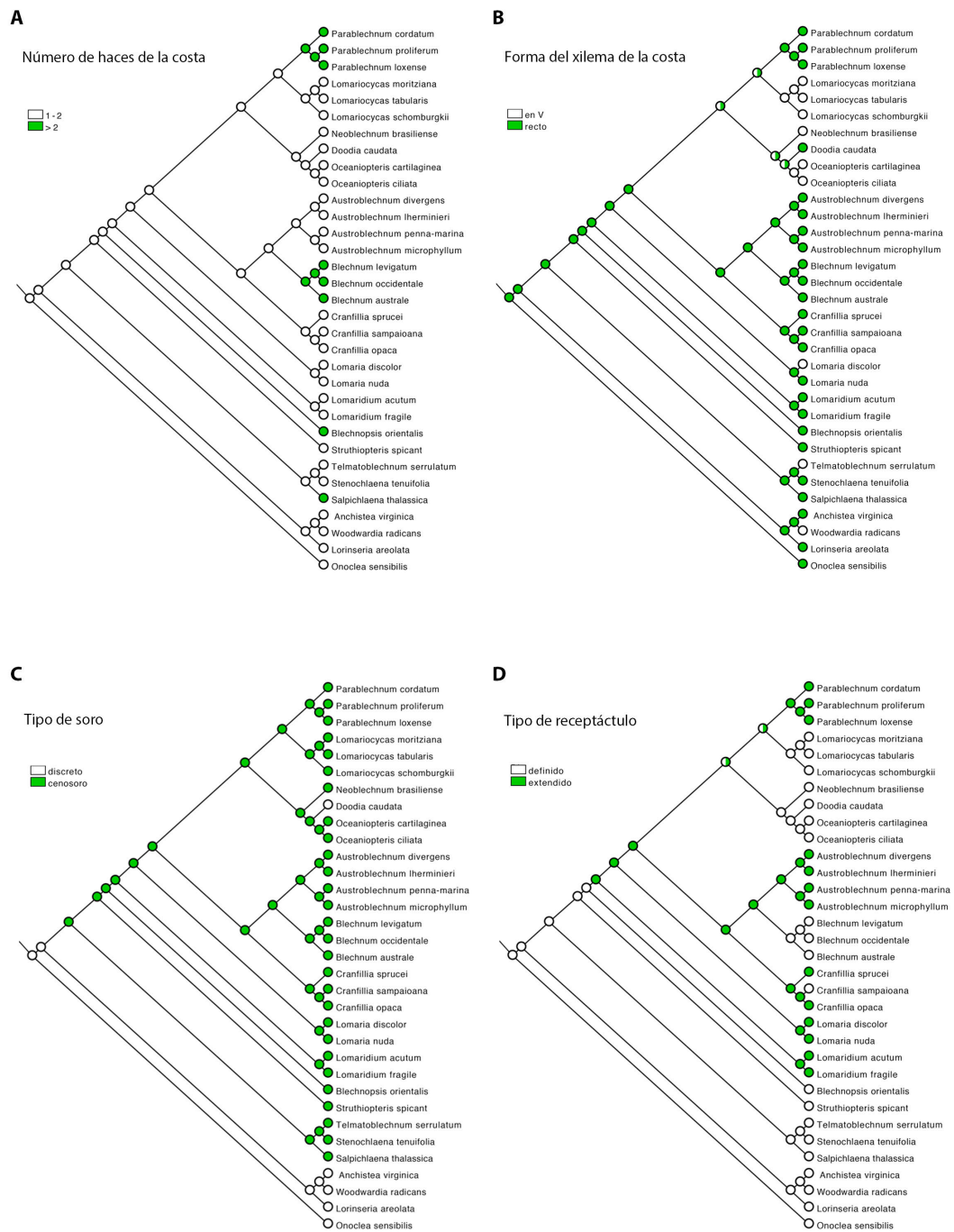


Figura 18. Cladogramas mostrando la reconstrucción de la evolución de los siguientes caracteres, en todos ellos se muestra una leyenda con la relación de los estados de cada carácter con el color asignado para cada uno de ellos: A) Número de haces de la costa; B) Forma del xilema de la costa; C) Tipo de soro; D) Tipo de receptáculo.

En el cladograma en el cual se reconstruye el carácter **tipo de receptáculo** (Fig. 18D) se puede observar que el estado ancestral para Blechnaceae es el receptáculo discreto. Este estado se mantiene hasta derivar a extendido en el nodo que da lugar al género *Lomaridium*. Este estado revierte a discreto para el género *Blechnum*, y en otro evento independiente para los géneros *Lomariocycas*, *Oceaniopteris*, *Neoblechnum* y *Doodia*, si bien no se llega a determinar si revierte en el nodo común de dichos géneros con *Parablechnum* y en *Parablechnum* vuelve a revertir a extendido, o si por el contrario el nodo común con *Parablechnum* implica el estado derivado extendido, y revierte a discreto en dos eventos independientes: uno para el clado conformado por *Doodia*, *Neoblechnum* y *Oceaniopteris* y por otro lado para el género *Lomariocycas*. Para la reconstrucción de la historia evolutiva de este carácter han sido necesarios cinco pasos y presenta un $r=0.67$.

En el árbol de la **forma del receptáculo** (Fig. 19A) se observa que el estado ancestral para las Blechnaceae es un receptáculo plano. Dentro de las Blechnaceae, el carácter derivado receptáculo convexo aparece de forma independiente en los siguientes taxones: *Anchistea virginica*; *Salpichlaena thalassica* y *Telmatoblechnum serrulatum*, en cuyo caso no está resuelto si el nodo que comparten con *Stenochlaena tenuifolia* es receptáculo convexo o receptáculo plano (estado que presenta *S. tenuifolia*); las especies estudiadas del género *Blechnum*; *Oceaniopteris ciliata*; *Neoblechnum brasiliense*; y finalmente las especies estudiadas del género *Lomariocycas*. La historia evolutiva de este carácter se ha reconstruido en ocho pasos y su $r=0.4$.

En el cladograma en el cual se reconstruye el carácter **estructura con función indusial** (Fig. 19B) se puede observar que el estado ancestral de este carácter no se resuelve en la base del árbol. *Onoclea sensibilis* presenta una estructura indusial simple. La subfamilia Woodwardioideae tiene un representante con una estructura compleja (*Lorinseria areolata*), mientras que tiene dos representantes con una estructura simple (*Woodwardia radicans* y *Anchistea virginica*), por lo que el nodo común para esta subfamilia queda sin resolver entre estos dos estados para este carácter. La subfamilia Stenochlaenoideae tiene un representante con estructura indusial compleja (*Salpichlaena thalassica*), un representante con estructura indusial ausente (*Stenochlaena tenuifolia*) y un representante con estructura indusial simple (*Telmatoblechnum serrulatum*), por lo que de nuevo, el nodo común para esta subfamilia queda sin resolver. Sin embargo, la subfamilia Blechnoideae tiene como

estado ancestral para este carácter una estructura indusial compleja habiendo una evolución convergente en tres clados independientes a una estructura indusial simple: *Cranfillia sampaioana*; el clado compuesto por las especies estudiadas de los géneros *Blechnum* y *Austroblechnum*; y finalmente el clado compuesto por los géneros *Oceaniopteris*, *Neoblechnum* y *Doodia*. En este último clado, hay una reversión a estructura con función indusial compleja en el taxón *Oceaniopteris ciliata*. La historia evolutiva de este carácter se ha reconstruido en ocho pasos y su $r=0.57$.

En el árbol en el que se reconstruye el **modelo epidérmico del indusio** (Fig. 19C) se observa que el estado ancestral para Blechnaceae es el modelo poligonal. *Stenochlaena tenuifolia*, dado que es exindusiada, no presenta este carácter. El modelo subpoligonal aparece de forma independiente en los siguientes taxones: *Lomaridium fragile*, *Cranfillia sampaioana*, *Blechnum australe*, *Austroblechnum microphyllum*, *Oceaniopteris cartilaginea* y finalmente *Parablechnum cordatum* y *P. loxense*, si bien en este último género, no se llega a resolver el momento de aparición de dicho estado, dado que *P. proliferum* presenta el modelo tipo poligonal, por lo que el modelo subpoligonal podría haber aparecido en una ocasión, y haber revertido al estado ancestral en *B. proliferum*, o bien, haber aparecido en dos eventos independientes. El modelo sinuoso, sin embargo, parece haber surgido únicamente en dos eventos evolutivos paralelos: uno dando lugar al clado formado por las especies estudiadas de *Blechnum* y *Austroblechnum* (a excepción de las dos especies ya nombradas, que poseen modelo subpoligonal) y otro dando lugar a *Neoblechnum brasiliense*. La historia evolutiva de este carácter se ha reconstruido en 10 pasos y presenta un $r=0.36$.

El **número de células del anillo** (Fig. 19D) se reconstruye en un cladograma en el que se observa que el estado ancestral para este carácter en todos los nodos no terminales del árbol es un número de células comprendido entre 18 y 25. Este carácter deriva a un número menor de 18 células de forma independiente en los siguientes taxones: *Anchistea virginica*; *Stenochlaena tenuifolia*; todos los ejemplares del clado formado por los géneros *Cranfillia*, *Blechnum* y *Austroblechnum* (superclado A); *Oceaniopteris cartilaginea*; *Doodia caudata*; y *Parablechnum cordatum*. Mientras que el carácter deriva a un número de células del anillo superior a 25 en los taxones: *Salpichlaena thalassica* y *Parablechnum proliferum*. La historia evolutiva de este carácter se ha reconstruido en diez pasos y tiene un $r=0.43$.

En el árbol en el cual se reconstruye la **longitud de las células de la roseta** (Fig. 20A) se puede observar que el estado ancestral para las Blechnaceae no se resuelve, dado que *Onoclea sensibilis* tiene las células de la roseta largas. El estado ancestral para la subfamilia Woodwardioideae frente al resto de Blechnaceae tampoco se resuelve: *Lorinseria areolata* presenta células de la roseta largas y *Woodwardia radicans* y *Anchistea virginica* las tienen cortas. Sin embargo para las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae se resuelve que el estado ancestral es tener las células de la roseta cortas. Presentan el estado derivado células de la roseta largas los siguientes taxones: *Stenochlaena tenuifolia*, *Cranfillia sampaioana* y *C. opaca*, los taxones estudiados de los géneros *Blechnum* y *Austroblechnum*, *Lomariocycas moritziana* y *Parablechnum loxense*. Han sido necesarios ocho pasos para la reconstrucción de la historia evolutiva de este carácter y presenta un $r=0.5$.

En el cladograma del **tipo esporal** (Fig. 20B) se puede ver que el estado ancestral para dicho carácter es el tipo esporal V. La subfamilia Stenochlaenoideae presenta dos tipos esporales derivados: *Salpichlaena thalassica* y *Telmatoblechnum serrulatum* tienen el tipo VI y *Stenochlaena tenuifolia* tiene tipo esporal VII. *Struthiopteris spicant* tiene tipo esporal II, que también presentan las especies del género *Lomariocycas*, obtenidos respectivamente en dos eventos independientes. Las dos especies del género *Lomaridium* presentan el tipo esporal III, que también tiene la especie *Cranfillia sampaioana*, obtenidos también respectivamente en dos eventos independientes. *Cranfillia sprucei*, los ejemplares estudiados del género *Blechnum*, del género *Austroblechnum*, *Doodia caudata*, *Neoblechnum brasiliense* y *Oceaniopteris ciliata* comparten el tipo esporal derivado tipo I, que ha aparecido en una sola ocasión. La especie *O. cartilaginea* revierte al estado tipo V. *Parablechnum cordatum* y *P. loxense* presentan el estado derivado tipo IV, mientras que *P. proliferum* ha revertido a tipo V. Han sido necesarios once pasos para la reconstrucción de la historia evolutiva de este carácter y tiene un $r=0.69$.

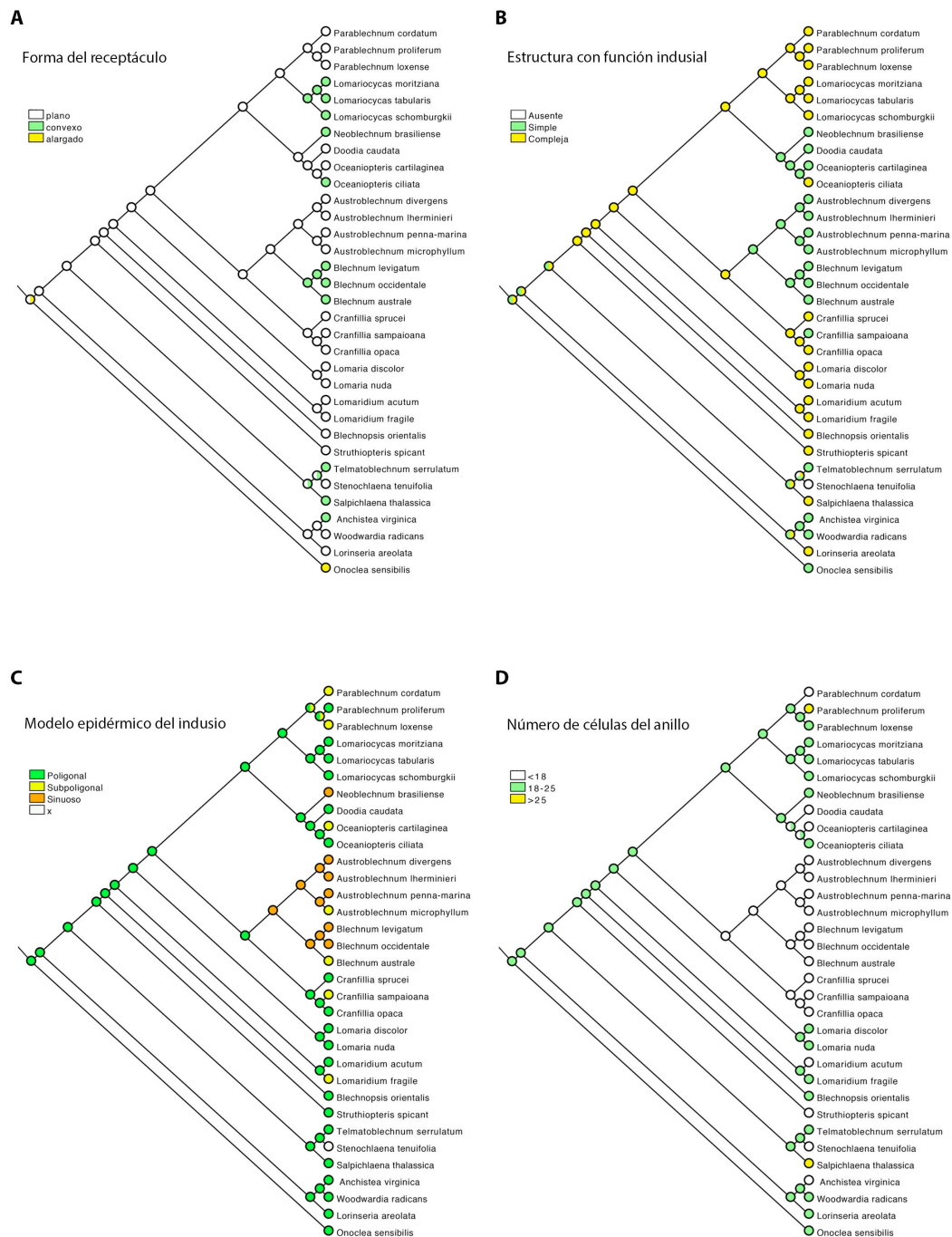


Figura 19. Cladogramas mostrando la reconstrucción de la evolución de los siguientes caracteres, en todos ellos se muestra una leyenda con la relación de los estados de cada carácter con el color asignado para cada uno de ellos: A) Forma del receptáculo; B) Estructura con función indusial; C) Modelo epidérmico del indusio; D) Número de células del anillo.

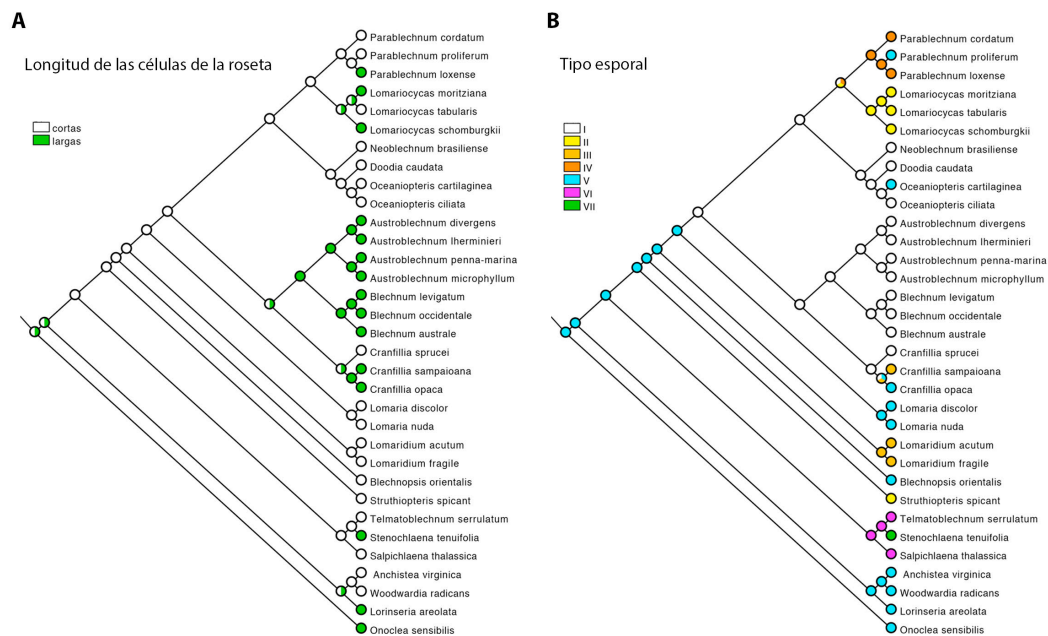


Figura 20. Cladogramas mostrando la reconstrucción de la evolución de los siguientes caracteres, en todos ellos se muestra una leyenda con la relación de los estados de cada carácter con el color asignado para cada uno de ellos: A) Longitud de las células de la roseta; B) Tipo esporal.

Estudiando los caracteres **diferenciación foliar, perfil de la pinna y estructura indusial combinados** se observa que hay combinaciones de estados de dichos caracteres que se repiten en las especies estudiadas. Así pues, la combinación dimorfismo, pinna plana y estructura indusial compleja es la más repetida entre todas las especies estudiadas, apareciendo en el 44% de los géneros (8 de 18) y en el 42% de las especies (14 de 33): *Lorinseria*, *Struthiopteris*, *Lomaridium*, *Lomaria*, *Cranfillia*, *Lomariocycas*, *Oceaniopteris* y *Parablechnum*. Hay tres casos excepcionales dentro de estos géneros: la especie *P. loxense*, que es monomórfica, con pinnas planas y estructura indusial compleja; la especie *O. cartilaginea* que es subdimórfica, con pinnas planas y estructura indusial simple; y la especie *C. sampaioana* que es dimórfica, con pinnas curvas y estructura indusial simple. Sin embargo, hay un género subdimórfico con pinna plana y estructura indusial compleja: *Salpichlaena*, y un género monomórfico con pinna plana y estructura indusial compleja: *Blechnopsis*.

Otras combinaciones menos frecuentes de estados para estos tres caracteres son:

a) Monomorfismo, pinna plana y estructura indusial simple, típica, que se repite en cinco géneros de los dieciocho estudiados (28%): *Woodwardia*, *Anchistea*, *Telmatoblechnum*, *Blechnum* y *Neoblechnum*.

b) Dimorfismo, pinna curvada y estructura indusial simple, que se repite en tres casos en la familia Blechnaceae y en el grupo externo: *Onoclea*, *Stenochlaena*, *Cranfillia sampaiiana* y *Austroblechnum*. Este grupo es menos homogéneo, dado que en el caso de *Stenochlaena*, al ser exindusiada, no hay una equivalencia para el carácter estructura indusial, y además, la especie *C. sampaiiana* es una excepción dentro de su género.

c) Subdimorfismo, pinna plana y estructura indusial simple, combinación que sólo presenta el género *Doodia*.

d) *Blechnopsis* y *P. loxense* son los únicos casos en los que la estructura indusial compleja se asocia con el monomorfismo.

Combinando los caracteres **tipo de receptáculo y diferenciación foliar** se observa también que todos los taxones que presentan receptáculo extendido, son dimorfos: *Lomaridium*, *Lomaria*, *Cranfillia* (excepto *C. sampaiiana*), *Austroblechnum* y *Parablechnum*.

Combinando los caracteres **perfil abaxial de la pinna y número de haces vasculares**, se observa que el 100% de los taxones que presentan un perfil abaxial de la costa plano presentan 1 ó 2 haces vasculares: la subfamilia Woodwardioideae (*Anchistea*, *Woodwardia* y *Lorinseria*) y *O. ciliata*. Si bien no todos los taxones con 1 ó 2 haces vasculares presentan perfil abaxial de la costa plano. Además, todos los taxones que tienen más de 2 haces vasculares presentan un perfil abaxial de la costa curvado o carinado: *Salpichlaena* (curvado), *Blechnopsis* (carinada), *C. sprucei*, *Blechnum*, y *Parablechnum*.

Combinando los caracteres **número de células del anillo y longitud de las células de la roseta**, se observa que todos los taxones que presentan una longitud de las células de la roseta larga, presentan un número de células del anillo bajo (*Stenochlaena*, *Cranfillia* -a excepción de *C. sprucei*-, *Blechnum*, *Austroblechnum*) o medio (*Onoclea*,

Lorinseria, *Lomariocycas schomburgkii*, *L. moritziana* y *Parablechnum loxense*). Si bien hay especies que presentan un número de células del anillo bajo que también presentan células de la roseta cortas (es el caso de *Anchistea*, *Struthiopteris*, *Lomaridium acutum*, *Oceaniopteris cartilaginea*, *Doodia* y *Parablechnum cordatum*).

APUNTES NOMENCLATURALES

A la vista de la propuesta de nuevos géneros para las Blechnaceae (Gasper *et al.*, 2016b), es necesaria la recombinação de algunos nombres de especies que hasta el momento están bajo otros géneros, manteniendo su rango, como se propone a continuación:

1. *Lomaridium angustifolium* (Kunth) Vicent & Gabriel y Galán *comb. nov.*

≡ *Lomaria angustifolia* Kunth, Nova Genera et Species Plantarum (quarto ed.) 1: 18. 1815 [1816]. ≡ *Blechnum angustifolium* (Kunth) Hieron. in Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie 34: 472. 1904, nom. illeg., non Willd. Species Plantarum. 5: 414. 1810. ≡ *Blechnum kunthianum* C.Chr., Index Filicum Suppl. 1906 – 1912: 16. 1913.

2. *Lomariocycas moritziana* (Klotzsch) Vicent & Gabriel y Galán *comb. nov.*

≡ *Lomaria moritziana* Klotzsch in Linnaea 20: 347. 1847. ≡ *Blechnum moritzianum* (Klotzsch) T.Moore, Index Filicum: 200. 1857 – 1862.

= *Blechnum yungense* J.P.Ramos in Novon 20: 68. 2010. = *Lomariocycas yungensis* (J.P.Ramos) Gasper & A.R.Sm. in Phytotaxa 275 (3): 213. 2016.

Comentario: El tipo de la planta que fue descrita como *B. yungense* corresponde completamente a *B. moritzianum*, en opinión de Rolleri *et al.* (2013: 378), por lo que aquí la consideramos como sinónimo de éste.

DISCUSIÓN

Blechnaceae es una importante familia de helechos leptosporangiados. Como familia parece bien definida (Smith *et al.*, 2006a; Kuo *et al.*, 2011; Christenhusz & Chase, 2014; PPG1, 2016), pero la clasificación intrafamiliar ha sido debatida desde hace mucho tiempo, habiéndose propuesto numerosísimas clasificaciones (Copeland, 1947; Pichi-Sermolli, 1977; Kramer *et al.*, 1990; Cranfill & Kato, 2003; Rothfels *et al.*, 2012). Recientemente se ha propuesto una clasificación en 24 géneros basada en una filogenia molecular (Gasper *et al.*, 2016a; Gasper *et al.*, 2016b). Este nuevo contexto, que ya se había comenzado a fraguar previamente por otros autores a través de grupos informales (Tryon & Tryon, 1982; Cranfill, 2001; Gabriel y Galán *et al.*, 2013) ha permitido un notable avance en la comprensión y organización de la diversidad en la familia. Como todos los avances, esta nueva clasificación abre posibles nuevas vías de investigación: a) profundización en la filogenia interna de los géneros actuales y su biogeografía; b) estudio de los caracteres morfológicos sinapomórficos de los géneros, que en algunos casos siguen siendo difíciles de acotar; c) proposición de hipótesis evolutivas de las estructuras asociadas a la diversidad de los géneros y sus caracteres morfológicos, pudiendo ser especialmente interesante el estudio de las frondes fértiles y el dimorfismo foliar, tema que presenta un extraordinario interés en la pteridología (Wagner, 1986; Moran, 1987; Dalgallo Rocha *et al.*, 2013).

Los estudios aquí realizados se han dirigido a completar el conocimiento de algunos aspectos poco investigados de las Blechnaceae, y que, en definitiva, permitirán avanzar hacia una sistemática integral de la familia.

Especies hemiepifíticas. Género *Lomaridium*

En esta parte del trabajo se ha estudiado la filogenia y la historia biogeográfica del género *Lomaridium*, que incluye especies hemiepifitas de la familia Blechnaceae, y se ha ampliado el muestreo de trabajos previos. No todas las especies del género se han podido circunscribir en este estudio; sin embargo, están incluidas todas las regiones geográficas que tienen representantes. Por esta razón, en este trabajo se establece con mayor certeza la monofilia del grupo, profundizando lo dicho en estudios precedentes (Gabriel y Galán *et al.*, 2013; Perrie *et al.*, 2014; Gasper *et al.*, 2016a).

Nuestros resultados datan el origen del género *Lomaridium* en algún momento durante el Oligoceno (periodo Paleogénico, era Cenozoica), entre aproximadamente 40 millones de años, momento en el cual existía un ancestro común con otros géneros, y aproximadamente 23 millones de años, cuando ocurrió la primera divergencia dentro de *Lomaridium* (Fig. 10). La localización geográfica más probable para el origen de *Lomaridium* es en el área tropical americana. Esto coincide con la idea de que la mayoría de las familias y géneros actuales de helechos leptosporangiados aparecieron, o al menos se diversificaron, durante la era Cenozoica (Schuettpelz & Pryer, 2009). Es altamente probable que la diversificación de los helechos epifíticos y hemiepifíticos fuera propulsada por la aparición de un hábitat apropiado, por ejemplo, cuando los bosques tropicales con grandes árboles y atmósfera húmeda se constituyeron como biomas estables. Esto es probable que ocurriera durante la era Cenozoica (Burnham & Johnson, 2004; Schuettpelz & Pryer, 2009).

Durante gran parte de su historia evolutiva, *Lomaridium* se ha diversificado en su localización geográfica ancestral putativa, las áreas tropicales de Sur y Centro América. Un grupo distintivo que coincide con dicha diversificación es el clado de *L. fragile* y está morfológicamente bien caracterizado. Nuestros resultados apoyan la presencia de al menos cinco especies diferentes: *L. fragile*, *L. fuscusquamosum*, *L. binervatum*, *L. ensiforme* y *L. acutum* (Figs. 9 y 10). La primera diversificación dentro de este clado parece haber ocurrido hace alrededor de 11 millones de años, separando un linaje que incluye a *L. fragile* y *L. fuscusquamosum* de otro que incluye a *L. ensiforme*, *L. acutum* y *L. binervatum*, los últimos dos estando más cercanos filogenéticamente. *Lomaridium nigrocostatum*, que no está incluido en nuestros análisis moleculares, aparecería, basándonos en su morfología, relacionado con este grupo, lo más probable perteneciendo al grupo que forman *L. fragile* y *L. fuscusquamosum*. Probablemente, *L. plumieri* pudiera pertenecer a este clado, al igual que el caso de *L. pteropus*, a pesar de que este último presenta algunas características algo diferentes, como la morfología de las frondas estériles o su carácter hemiepífito secundario (Dittrich, 2005).

Las entidades tradicionalmente reconocidas para este clado (*L. fragile*, *L. acutum*, *L. binervatum* y *L. ensiforme*) han sido unificadas en una única especie *Blechnum binervatum* conformada por varias subespecies: *B. binervatum* subsp. *fragile* (Liebm.) Tryon & Stolze y *B. binervatum* subsp. *acutum* (Desv.) Tryon & Stolze y la

subespecie tipo *B. binervatum* subsp. *binervatum* (Tryon & Stolze, 1993). Esto ha causado no pocos problemas taxonómicos. Si este concepto se mantuviera, un *L. binervatum* actualizado debería incluir también a *L. fuscusquamosum* y (presumiblemente) a *L. nigrocostatum*, mientras que *L. pteropus* debería ser cuidadosamente revisado. La consideración de todas las anteriores, como subespecies de una única especie *L. binervatum*, parece menos razonable que considerar un set de especies, que eventualmente podrán formar distintos tipos de híbridos, como ocurre por ejemplo entre *L. fragile* y *L. ensiforme* (Moran, 1995). Además, los distintos individuos de *L. acutum*, *L. ensiforme*, *L. fragile* y *L. fuscusquamosum* no solapan en los análisis moleculares, siendo pues todos monofiléticos, lo cual abunda en la idea de considerarlas como entidades diferenciadas. Para algunas especies, también hay rasgos ecológicos que apoyan su separación, como la diferencia en preferencias altitudinales de *L. ensiforme*, que aparece normalmente en bosques neblinosos montanos, y *L. acutum*, que aparece en selvas bajas.

Si, como proponemos, mantenemos todas las especies nombradas como entidades diferentes, el concepto de *L. binervatum* se restringiría a las plantas caribeñas de las Antillas Menores y Puerto Rico, y presentaría una aparente apomorfía morfológica: escamas rizomáticas concoloras (Morton & Lellinger, 1967). Esta especie caribeña parece haberse diversificado del continente cuando se separó de *L. acutum* en una fecha geológica reciente, hace alrededor de 4 millones de años. El resto de especies están confinadas al centro y sur de América continental. Así pues, nuestros resultados apoyan la separación de cinco especies americanas en este clado: *L. acutum*, *L. binervatum*, *L. ensiforme*, *L. fragile* y *L. fuscusquamosum*, a las que habría que sumar, tras realizar los correspondientes análisis, *L. nigrocostatum*, *L. plumieri* y *L. pteropus*.

Desde las regiones tropicales de centro y sur América, *Lomaridium* se dispersa y coloniza otros territorios, incluyendo África, Madagascar y Nueva Caledonia. La época de la primera divergencia dentro del género está estimada en hace alrededor de 23 millones de años, y es altamente probable que los eventos de colonización hayan ocurrido a través de eventos de dispersión transoceánicos de las esporas, porque en este periodo las distintas porciones de Gondwana ya se habían separado, por lo que no se puede recurrir a la vicarianza para explicar la distribución actual de *Lomaridium*. Eventos de dispersión a largas distancias han sido documentados para otras familias y géneros de helechos con distribución circum-Antárticas (Parris, 2001) y Pantropicales

(Kato, 1993; Korall & Pryer, 2014), incluyendo helechos epifíticos (Schneider *et al.*, 2004a; Hennequin *et al.*, 2010). Para las Blechnaceae, se presupone que los eventos de dispersión a larga distancia coinciden con la distribución de muchas especies australes (Perrie & Brownsey, 2007; Shepherd *et al.*, 2007).

La dispersión de *Lomaridium* parece haber ocurrido en cuatro eventos diferentes (Fig. 10). El evento más antiguo se estima en alrededor de 23 millones de años atrás, cuando el ancestro común de *L. contiguum* con el resto de las especies se separó y colonizó Nueva Caledonia, sufriendo una posterior especiación que originó *L. contiguum*. Aparentemente, *Lomaridium* no ha experimentado divergencia en esta área geográfica, manteniéndose como una especie aislada y endémica, si bien este hecho pueda explicarse también por procesos de extinción, para cuya dilucidación habrá que profundizar en el futuro. El segundo evento de divergencia ocurrió alrededor de 18 millones de años atrás, separando el que hemos llamado el clado de *L. schottii*, que incluye dos especies, *L. schottii* y *L. angustifolium*, del resto de especies. La última especie (*L. angustifolium*) ha sido en ocasiones considerada como sinónimo de *L. fragile* (Morton & Lellinger, 1967; sub *Blechnum fragile* & *Blechnum kunthianum*), en este caso se señaló la posibilidad de segregar las plantas sudamericanas más grandes como una especie distinta, que en ese caso deberían nombrarse *Blechnum kunthianum*. *Lomaridium angustifolium* también se ha considerado bajo *Blechnum binervatum* subsp. *acutum* (Desv.) R.M. Tryon & Stolze (Tryon & Stolze, 1993) o bajo *Blechnum acutum* (Desv.) Mett. (Jørgensen *et al.*, 2014). Nuestros resultados apoyan sin lugar a dudas la distinción de una entidad separada para *L. angustifolium*, ya que aparece filogenéticamente lejana tanto a *L. fragile* como a *L. acutum*. De hecho ambas especies se encuentran en una clado distinto a aquel en el que aparece *L. angustifolium*, estando esta última especie en el clado de *L. schottii* y las dos primeras en el clado de *L. fragile*.

Una situación interesante, desde el punto de vista geográfico, es el hecho de que *L. schottii* es endémico de las Islas de Juan Fernández (Chile), un archipiélago volcánico con una edad estimada de menos de 10 millones de años, con muchas de sus islas mucho más modernas (Rodrigo & Lara, 2014), mientras *L. angustifolium* se distribuye por las Yungas tropicales del sur de Bolivia y el norte de Argentina. En vista de las fechas estimadas para los orígenes del clado de *L. schottii* y el origen geológico de las Islas de Juan Fernández, la historia evolutiva más probable implica un evento de diversificación entre el ancestro de dicho clado y el ancestro del resto de especies del

continente sudamericano, y después, alrededor de 10 millones de años atrás, o menos, un evento cladogenético acompañado de la dispersión del ancestro mismo a las Islas de Juan Fernández y la emergencia de *L. schottii*. Este patrón de ruta de dispersión a larga distancia y una especiación posterior se considera responsable de haber operado durante los últimos millones de años y generado un elevado número de helechos y otras plantas vasculares, incrementando inmensamente la ratio de endemidad de las islas (Ricci, 1996). En este sentido es remarcable la similitud de *L. schottii* con el caso de otra Blechnaceae endémica del archipiélago de Juan Fernández, *Lomariocycas cycadifolia* (Colla) Gasper & A.R.Sm., teniendo este género también un importante número de especies en el continente americano.

El tercer evento de especiación dentro del género *Lomaridium* se estima en alrededor de 13 millones de años atrás, seguido por un evento de dispersión a Madagascar y el origen del clado *L. attenuatum*. La subsecuente diversificación en Madagascar resultó en la emergencia de tres especies: *L. attenuatum*, *L. simillimum* y *L. biforme*. Las dos últimas son endémicas de la isla (Rakotondrainibe *et al.*, 2013), y nuestros resultados muestran que son especies hermanas entre si y que han divergido muy recientemente, estimado en poco más de hace un millón de años. *Lomaridium attenuatum* se diversificó del ancestro de las dos restantes antes (alrededor de 9 millones de años atrás) y se dispersó por las áreas tropicales y australes del continente africano, e incluso a alguna isla del Océano Índico (Aldasoro *et al.*, 2004). Esta especie es variable en cuanto a su morfología y se han propuesto algunas variedades, como la var. *giganteum* [*Blechnum attenuatum* var. *giganteum* (Kaulf.) Bonap.], para la que se ha descrito en alguna ocasión la presencia de un hábito terrestre en lugar de hemiepifítico (Rakotondrainibe *et al.*, 2013). La falta de ejemplares africanos nos ha impedido aclarar los problemas taxonómicos entre *Blechnum simillimum* (Baker) Diels y *B. xyphophyllum* (Baker) C.Ch. Algunos autores no los diferenciaban como especies (Schelpe, 1952) y otros segregaban ambas (Rakotondrainibe *et al.*, 2013), pero incluso en este último caso se enfatizaba en las dificultades en determinar cada individuo. Han de realizarse aún futuros estudios moleculares para desentrañar la relación entre estas dos entidades.

El último evento de dispersión ocurrido en el género *Lomaridium* es aquel realizado por el ancestro común de *L. binervatum* con el resto de las especies americanas al Caribe durante los últimos cuatro millones de años, como se ha discutido

previamente, que originó una vez allí *L. binervatum*. Otras familias y géneros de helechos parecen tener relaciones biogeográficas transatlánticas similares a las vistas para *Lomaridium*, con elementos comunes (géneros o incluso especies) distribuidas tanto en las Américas como en África. Entre estas, hay otra especie de Blechnaceae del género *Lomariocycas*, *L. tabularis*, una planta con distribución disyunta en ambos continentes (Moran & Smith, 2001; Rolleri *et al.*, 2013). La hipótesis biogeográfica propuesta para explicar estas afinidades típicamente invoca eventos de dispersión a larga distancia, sobre todo direccionados de los Neotrópicos a África (Moran & Smith, 2001), lo cual es congruente con nuestros resultados para *Lomaridium*.

Finalmente, los datos fósiles y las reconstrucciones históricas para las Blechnaceae, incluyendo los presentes análisis, emplazan, sin lugar a dudas, la divergencia de la subfamilia Woodwardioideae (que incluye los géneros *Woodwardia*, *Anchistea* y *Lorinseria*) del resto de Blechnaceae (subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae) al menos durante el Paleoceno temprano (Collinson, 2001; Cranfill & Kato, 2003; Schneider *et al.*, 2004b).

Dos puntos de vista compiten para describir los movimientos históricos dentro de las Blechnaceae: (Cranfill & Kato, 2003) pensaban que *Woodwardia* (y las Onocleaceae, la familia hermana de las Blechnaceae) se originaron en el norte de América y desde allí se dispersaron a través del este de Asia, y después a Europa. Teniendo en cuenta que el clado Stenochlaenoideae-Blechnoideae comparte un ancestro común con la subfamilia Woodwardioideae, el origen de éste debería emplazarse en el hemisferio norte, desde donde supuestamente se habrían dispersado el resto de géneros hacia el sur. Actualmente muchos de los géneros tienen una distribución austral. Esta opinión contrasta con la de otros autores, véase (Chambers & Farrant, 2001), quienes escribieron que “Nuestra interpretación del género (*Blechnum*) sugiere que es un grupo temprano de helechos leptosporangiados (probablemente del Cretáceo tardío) con un patrón de distribución radial centrado en Gondwana, con distintivas, pero solapantes, líneas de especiación extendiéndose hacia el norte desde la Antártida. Una de estas líneas geográficas se extiende a través del sur y centro de América hasta las Islas del Mar Caribe y hacia las áreas más húmedas del sur-este de norte América. Otra línea se extiende desde el sur de África hasta el centro y este del mismo continente. Una tercera línea puede ser trazada a través de algunas de las islas subantárticas hasta Nueva Zelanda, Tasmania y la costa este de Australia, y con una pequeña bifurcación a

Malasia”. Entre estos dos puntos de vista de la historia biogeográfica de las Blechnaceae – un origen emplazado en el norte seguido de una expansión hacia el sur, o un origen emplazado en el sur seguido de una expansión hacia el norte – nuestros resultados parecen más congruentes con el primero, dado que los nodos más profundos reconstruidos en nuestros análisis ocupan zonas del norte de América y Asia, así como las zonas tropicales de centro y sur América.

Es curioso el hecho de que *Lomaridium* se haya diversificado de forma mucho más intensa en América y África, y mucho menos en Oceanía y el Sudeste asiático, cuando hay una mayoría de géneros en las Blechnaceae en los que ocurre exactamente el caso contrario (Gasper *et al.*, 2016b); si bien, siempre cabe la posibilidad de que *Lomaridium* sufriera una gran expansión en Oceanía y posteriormente una serie de extinciones que culminaran en el aislamiento de *L. contiguum*.

Especies cordatoides. Género *Parablechnum* p.p.

Basándonos en los resultados aquí obtenidos para el complejo *Parablechnum cordatum* se pueden observar tres clados principales en los que, a propuesta de Gasper *et al.* (2016a), parece dividirse el género (a excepción de *P. articulatum* que permanece en una posición basal dentro del género) [Fig. 11]. Dos de ellos contienen especies oceánicas (a) *P. gregsonii*, *P. procerum* y *P. wattsii*, b) *P. montanum* y *P. corbassonii*, y el tercero contiene todas las especies americanas incluidas en el presente estudio.

Las especies *P. cordatum* y *P. chilense*, fundamentalmente, pero en algún caso también *P. schiedeanum*, han sido indistintamente tratadas como especies diferentes o como sinónimos a lo largo de las últimas décadas (De la Sota, 1972; Tryon & Stolze, 1993; Moran, 1995; Prada *et al.*, 2008; Rodríguez Ríos, 2015). En los resultados obtenidos en este trabajo, ambos árboles filogenéticos, tanto el de máxima verosimilitud, como el de inferencia bayesiana, apoyan la separación de *P. cordatum*, *P. chilense* y *P. schiedeanum* como entidades diferenciadas e independientes. *Parablechnum schiedeanum*, *P. chilense*, *P. cordatum* y *P. loxense* aparecen en un clado significativamente diferenciado de las especies oceánicas. Los cuatro individuos de *P. chilense* aparecen en un clado probabilísticamente muy apoyado y situado en una rama basal dentro de las especies americanas estudiadas. Los cuatro individuos de *P.*

schiedeanum aparecen en una rama, asimismo, con un alto apoyo probabilístico, que aparece como grupo hermano de las especies *P. cordatum* y *P. loxense*, que se agrupan a su vez con un alto apoyo estadístico. Así pues, las especies de estudio se agrupan de forma independiente, y *P. cordatum*, no sólo aparece separada de *P. chilense* y *P. schiedeanum*, sino que además, se agrupa con la especie *P. loxense*. Morfológica y anatómicamente, *Parablechnum loxense* y *P. cordatum* se separan por la diferenciación foliar, el número de células del anillo de los esporangios, y en el modelo epidérmico del indusio (Gasper *et al.*, 2016b; Prada *et al.*, 2016). Además, hay autores que apoyan la separación de las especies del complejo *P. cordatum* en base a características morfológicas, por ejemplo, Rodríguez Ríos (2015) sostiene que *P. cordatum* y *P. chilense* difieren en la forma y distribución de las escamas del peciolo y raquis, los aeróforos y la palinología, permitiendo la separación morfológica entre las dos especies. Por lo tanto, a la luz de los resultados expuestos, se puede asegurar que las tres especies han de ser consideradas entidades diferenciadas, con la siguiente distribución geográfica: *Parablechnum schiedeanum* aparece desde el sur de México hasta el norte de Panamá; *P. cordatum* se distribuye en el norte de Sudamérica y *P. chilense* se corresponde con las plantas del sur de Sudamérica (Fig. 21).

Debido a que se conocen fenómenos de hibridación dentro de las Blechnaceae (Tryon & Stolze, 1993; Moran, 1995) se tendría que estudiar con mayor detenimiento este aspecto dentro de este complejo, concretamente en las zonas geográficas de contacto, dado que si este fenómeno ocurre entre las plantas de este complejo, la dificultad de identificación de las especies aumentaría considerablemente.

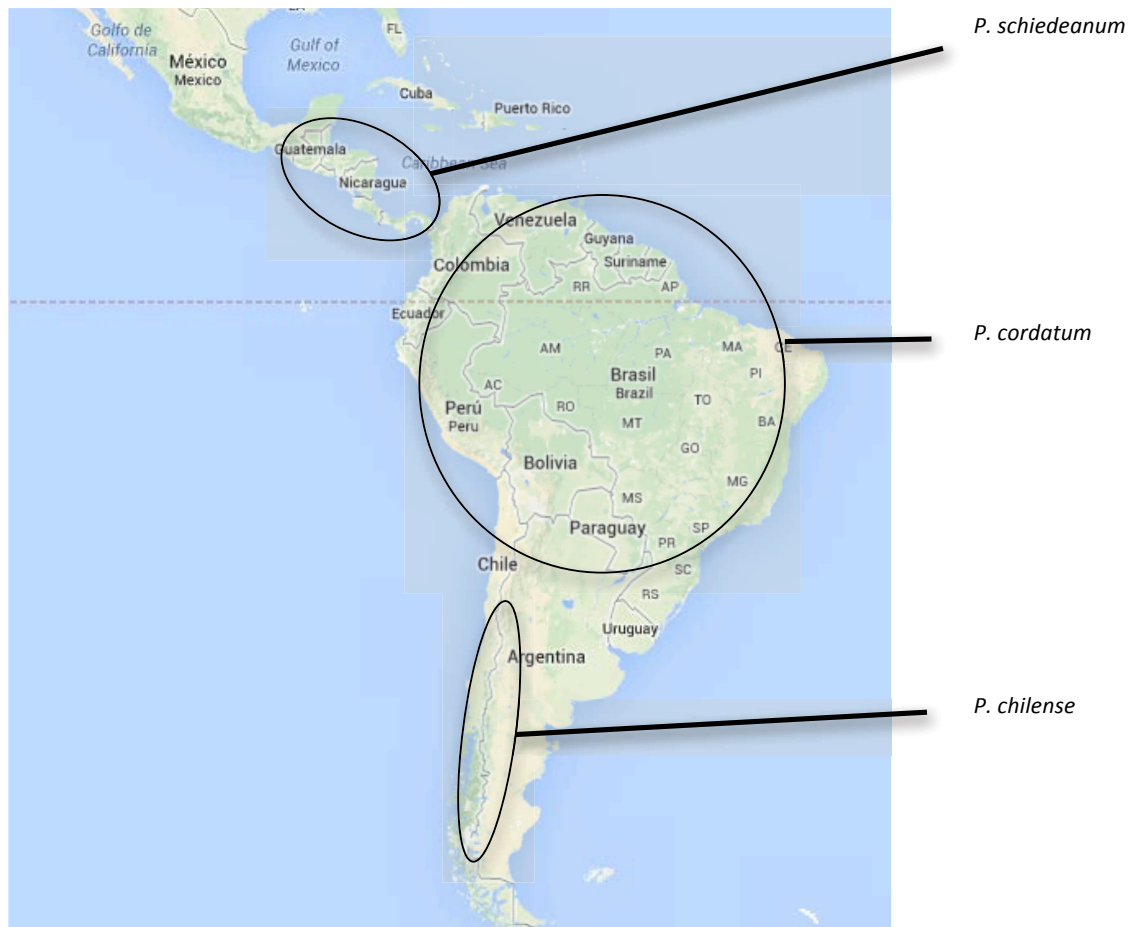


Figura 21. Representación de la distribución de las especies *Parablechnum schiedeanum*, *P. cordatum* y *P. chilense*.

Evolución de las pinnas fértiles

Desde la aparición de las técnicas moleculares ha habido una tendencia a desestimar, cada vez con más frecuencia, todo el conocimiento derivado del estudio de la morfología de las plantas, al menos a la hora de presentar sistemáticas y clasificaciones, que durante décadas, se han basado casi exclusivamente en datos moleculares. Da la sensación de que se piensa de las técnicas moleculares como la panacea que va a resolver todas las dudas de los naturalistas, sin necesidad de observar al individuo en su totalidad, ya que con una muestra de pinna se tiene suficiente material como para extraer ADN y obtener una gran cantidad de información molecular. Pero, la cuestión es que la complejidad evolutiva de estos organismos no se puede

reducir únicamente al estudio de una serie de secuencias, el estudio de la morfología se hace necesario para entender en toda su magnitud las posibles vías evolutivas que han sufrido estos organismos, las vías de dispersión que han seguido o simplemente, poder distinguir dos ejemplares *in situ*.

Los estudios detallados sobre la anatomía de los helechos son comparativamente escasos, sin embargo, la cantidad de información integrada en la morfología de la pinna fértil, los indusios, los esporangios y las esporas de las Blechnaceae, es demasiada como para no tenerla en cuenta a la hora de realizar estudios filogenéticos. Así pues, en este trabajo se ha realizado un estudio anatómico de especies no estudiadas hasta el momento en ese aspecto y el primer estudio cladístico integral de caracteres morfológicos en la familia Blechnaceae.

En el análisis anatómico de las especies de este estudio se han observado caracteres que no se han utilizado en los análisis cladísticos por ser relativamente homogéneos entre dichas especies. Así, todos los esporangios estudiados presentaban pedicelos de 3(-4) hileras de células, y rosetas de 3 células. Además, si bien la roseta es un carácter poco nombrado en la literatura, en el trabajo de Pryer *et al.* (1995) se muestra que los pedicelos de 1-3 hileras de células son un carácter simplesiomórfico para todas las Polypodiales (PPG1, 2016). El aparato estomial cuenta con poca variación en las especies estudiadas: labios de 2-8 células, epistomio de 1-6 células e hipostomio de 2-5 células.

Los caracteres perfil de la pinna, perfil adaxial de la costa, forma del xilema, forma del receptáculo, número de células del anillo y modelo epidérmico indusial mostraron todos ellos índices de retención por debajo de 0.5, lo cual quiere decir que se comportan como homoplásicos, y por tanto no deben ser considerados filogenéticamente informativos (Farris, 1989; Lipscomb, 1998), si bien su estudio es interesante como caracteres morfológicos diagnósticos de los distintos grupos.

Al respecto de estos caracteres, no obstante, es interesante notar que al estado surcado del carácter perfil adaxial de la costa se le ha dado valor plesiomórfico para todo el Orden Polypodiales en otros estudios anteriores (Sundue & Rothfels, 2014), lo cual presupondría que debiera haber tenido un mayor valor de retención en nuestro análisis. Sin embargo, el carácter perfil abaxial de la costa presenta un *r* de 0.71, uno de los índices de retención más altos de los caracteres estudiados. El cladograma resuelve

que el estado ancestral para las Blechnaceae para este carácter es un perfil abaxial carinado. El estado derivado que surge a partir del ancestro del clado *Lomaria* + el resto de la subfamilia Blechnoideae es un perfil abaxial curvado, y parece ser un estado sinapomórfico para todos los géneros terminales de la subfamilia Blechnoideae; este estado aparece previamente, de forma convergente a la anterior, para la subfamilia Stenochlaenoideae. La especie *Oceaniopteris ciliata* presenta otro estado derivado que es perfil abaxial plano, que presentan también todos los ejemplares estudiados de la subfamilia Woodwardioideae.

Otro carácter relevante es el tipo de soro, cuyo estado discreto es ancestral para la familia Blechnaceae. Se observa que muy pronto en su diversificación, en el nodo que separa las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae de la subfamilia Woodwardioideae, aparece el estado derivado cenosoro, como estado sinapomórfico para ambas subfamilias. Hay una reversión al estado soro definido únicamente en el género *Doodia*. Moran (1987) en *Polybotrya* y Wagner (1986) en *Pleopeltis*, proponen una secuencia evolutiva desde los soros discretos y sencillos hacia los cenosoros, por fusión basipétala de los mismos. Esta misma circunstancia parece haber ocurrido en el caso de las Blechnaceae, dado que a partir de taxones ancestrales con soro discreto pudieron aparecer formas con cenosoro, tempranamente en la historia evolutiva de la familia.

Especial relevancia tiene el carácter diferenciación foliar, pues se dispone de datos para todos los géneros de la familia. Los estados de este carácter parecen ser fijos a nivel de género, a excepción de *Oceaniopteris* y *Parablechnum*, cuyas especies manifiestan distintos estados. Se pueden aducir varias explicaciones posibles a este fenómeno, como por ejemplo, una mayor diversificación de las especies en la diferenciación foliar por exploración de espacios adaptativos variados, lo que a su vez induce a pensar en la naturaleza homoplásica, convergente, del carácter. El resultado obtenido es que el estado ancestral para esta familia es el estado dimórfico, si bien el índice de retención (r) de este carácter es de 0.29, lo cual indica que este carácter se comporta como homoplásico y no como sinapomórfico. Este índice nos informa de que los estados subdimórfico y monomórfico que aparecen en distintos géneros, han aparecido de forma independiente en cada uno de ellos, siendo pues eventos de convergencia evolutiva, y no el resultado de un único evento que nos permitiera considerar el carácter como sinapomórfico. Así, según nuestros resultados, el

dimorfismo parece ser el estado ancestral y además plesiomórfico en las Blechnaceae puesto que también aparece en las Onocleaceae, lo que coincide con estudios anteriores (Sundue & Rothfels, 2014).

Hay autores que afirman que el dimorfismo foliar resulta en una maximización de la dispersión de las esporas y una minimización en el coste metabólico de la construcción de las frondas fértiles, así pues implicaría una deriva hacia la economía de recursos (Vasco *et al.*, 2013), aunque suponga una reducción general de la tasa fotosintética que se compensaría por una mayor producción de esporas (Watkins *et al.*, 2016). Dado que esta explicación se ajusta en un sentido evolutivo en el cual monomorfismo es el estado ancestral y dimorfismo el estado derivado, argumento que parece asentado en la pteridología (Wagner & Wagner, 1977; Pryer *et al.*, 1995; Schneider, 2013), puede encontrarse contradictorio con el resultado obtenido en este estudio. Ahora bien, si se considera que el carácter derivado dimorfismo se ha adquirido de forma previa a la aparición de la familia y que es por tanto un carácter simplesiomórfico compartido con algún otro grupo, ambas afirmaciones dejan de ser contradictorias. Pryer *et al.* (1995) realizaron un estudio en el cual analizaban caracteres morfológicos y las transiciones de los estados de éstos, sobre un árbol filogenético obtenido con la secuencia *rbcL*. Así, en dicho trabajo se puede observar que hay una transición del estado monomórfico a dimórfico en las Onocleaceae, pero sin embargo dicha transición no se registra para la familia Blechnaceae. Ahora bien, la representatividad de ambas familias se basa en una especie para cada una: *Onoclea sensibilis* y *Blechnum occidentale*, respectivamente. Y como se puede ver en este trabajo, *Blechnum occidentale* es una especie monomórfica, dentro de una familia que registra un alto grado de dimorfismo. Así pues, si se interpreta la aparición del dimorfismo como un evento común para las familias Onocleaceae y Blechnaceae (Sundue & Rothfels, 2014), el dimorfismo sería el estado ancestral para las Blechnaceae y seguiría sin entrar en contradicción con la teoría de la economía de recursos planteada por Vasco *et al.* (2013).

En el caso del carácter estructura indusial se observa que el estado ancestral para la subfamilia Blechnoideae es una estructura indusial compleja. La estructura indusial simple presenta una convergencia evolutiva, dado que aparece en esta subfamilia de forma independiente tres veces en las especies estudiadas: en la especie *Cranfillia sampaioana*, en el clado que comparten *Blechnum* y *Austroblechnum* y en el clado que

comparten *Doodia*, *Neoblechnum* y *Oceaniopteris*, aunque el carácter revierte a una estructura compleja, estado ancestral, en la especie *Oceaniopteris ciliata*. El r de este carácter es de 0.57, lo cual indica que este carácter se comporta como sinapomórfico, más que como homoplásico, si bien la falta de resolución en las dos subfamilias basales de las Blechnaceae (subfam. Woodwardioideae y subfam. Stenochlaenoideae) puede ser la razón por la cual el r no sea más alto, y por tanto, la utilidad sistemática de este carácter debería continuar estudiándose. Este carácter ya fue destacado por Bower (1914) como una particularidad de la familia. Bower postula acerca de un órgano protector de los soros que es filéticamente el mismo en el género *Blechnum s.l.* y le da el nombre de margen filético, estructura que nosotros hemos denominado estructura con función indusial. En los casos en los que la estructura con función indusial aparece en una posición intramarginal se genera una situación nueva a la que denomina “flange”, que nosotros hemos descrito como el margen de la pinna fértil contraída. La formación de este margen de la pinna contraída no altera la naturaleza protectora de la estructura con función indusial, a pesar de que la posición de esta última no será ya marginal en aquellos casos en los que el margen alcance grandes proporciones. Bower (1914) muestra, con estudios anatómicos comparados, que la estructura indusial aparece como una cobertura indusial del soro y mantiene su identidad, pero sufre considerables modificaciones que hacen que cada vez dicha estructura sea más pequeña, llegando a los casos más derivados como son los de *Neoblechnum* y *Doodia*, que presentan en palabras de Bower “flap”, denominado por nosotros como estructura indusial simple. En este trabajo se demuestra que la estructura indusial que hemos denominado compleja es el estado ancestral para este carácter y que, como bien apuntaba Bower, el estado derivado es aquel que presenta por ejemplo *Neoblechnum brasiliense*, en el cual hay un origen intramarginal extremo del indusio y por tanto la estructura con función indusial se ha reducido de forma marcada hasta formar la estructura indusial simple, o indusio, en la terminología pteridológica tradicional. Habrá que ampliar el número de especies de estudio en géneros tales como *Woodwardia*, para resolver de manera más precisa los nodos ancestrales de los linajes basales de la familia. Igualmente, proponemos la necesidad de revisar las descripciones de la familia Blechnaceae, para ajustar el término indusio complejo a la realidad de los diferentes géneros.

La reconstrucción del carácter número de haces vasculares de la costa muestra que el estado ancestral para la familia Blechnaceae es presentar 1 ó 2 haces vasculares,

y según nuestros resultados, es un estado plesiomórfico. Sin embargo, este carácter presenta un índice de retención de 0.5, esto se puede relacionar con el hecho de que en cuatro ocasiones han aparecido más de dos haces vasculares en eventos de convergencia evolutiva como estado derivado. Esto concuerda con la opinión de que la ruptura de la estela en polistela es una condición derivada, por el hecho de presentar interrupciones parenquimáticas en el xilema (Gifford & Foster, 1996; Martinez & Vilte, 2012).

El carácter tipo de receptáculo presenta un índice de retención de 0.67. Esto implica que este carácter se comporta más como sinapomórfico que como homoplásico. Según nuestros resultados el estado definido sería el estado ancestral para la familia, y el estado receptáculo extendido habría surgido una única vez en el nodo común entre *Lomaridium* y el resto de la subfamilia Blechnoideae, a falta de resolverse el estado ancestral para el superclado B (*Oceanioteris* + *Doodia* + *Neoblechnum*; *Lomariocycas*; *Parablechnum*) [Fig. 4]. El estado definido habría revertido de forma independiente en varios momentos de la historia evolutiva de la familia. El receptáculo extendido se ha visto asociado con la presencia de venación de tipo diplodésmico, es decir, una extensión vascular hacia el margen de la vena media, en forma de masas xilemáticas desestructuradas, que permiten la irrigación de una mayor cantidad de esporangios. El cenosoro, por lo tanto, se va desdibujando hacia una situación que, para la generalidad de los helechos, ha sido denominada como acrosticoide (Bower, 1923; 1928; Dickason, 1946). Este fenómeno ha sido documentado, entre otros, para los géneros *Elaphoglossum*, *Lomagramma* y *Bolbitis* (Nayar, 1966), que se describen como típicamente acrosticoides. La expansión de la venas diplodésmicas presenta su máxima expresión en el género *Polybotrya*, que alcanza una condición anfiacrosticoide, ocupando los soros las dos superficies de la lámina (Moran, 1987). Por analogía anatómica con estos otros grupos acrosticoides, deberemos aceptar plenamente que entre las Blechnaceae hay especies con esa misma condición.

En el cladograma de la reconstrucción del tipo esporal se observa que el estado ancestral para este carácter es el tipo esporal V, del que derivan el tipo VI en la subfamilia Stenochlaenoideae, del que a su vez deriva el estado tipo VII en *Stenochlaena tenuifolia*; el tipo II en *Struthiopteris* y el tipo III en *Lomaridium*. En el nodo ancestral de los superclados A y B aparece el estado derivado tipo I, del que parece que derivan a su vez el tipo IV en *Parablechnum*, si bien *P. loxense* revierte al estado ancestral; el tipo II en *Lomariocycas* y el tipo III en *Cranfillia sampaioana*, si

bien *C. opaca* revierte al estado ancestral. Una espora de ornamentación similar al aquí descrito como Tipo V se ha identificado como ancestral para otros grupos de helechos, específicamente en el clado de las Dryopteridaceae bolbitoides (Moran *et al.*, 2010).

Un caso manifiesto de aparente asociación en la evolución de caracteres es el que se da entre los siguientes: diferenciación foliar, perfil de la pinna y estructura indusial, para los que se ha detectado una elevada frecuencia de asociación de los diferentes estados en las especies de estudio. Esta co-evolución nos plantea distintas rutas evolutivas: por un lado, hay especies en las que aparecen combinadas la estructura indusial compleja y el perfil de la pinna plano (*Lorinseria*, *Struthiopteris*, *Lomaridium*, *Lomaria*, *Cranfillia* excepto *C. sampaioana*, *Lomariocycas*, *Oceaniopteris ciliata* y *Parablechnum* excepto *P. loxense*); por otro lado, aquellas con estructura indusial simple y pinnas curvadas (*Onoclea*, *Cranfillia sampaioana* y *Austroblechnum*). En los dos casos anteriores, las especies son dimórficas, es decir, hay una especialización del esporófilo frente al trofófilo (Wagner & Wagner, 1977). Esto podría estar relacionado con la protección efectiva del cenosoro: en los casos en los cuales las pinnas son planas, el cenosoro se protege con una estructura indusial compleja. Sin embargo, en los casos en los que las pinnas están curvadas, esta curvatura de la pinna ya está protegiendo al cenosoro, por lo que una estructura indusial más sencilla o incluso reducida sería suficiente. En este conjunto de especies dimórficas están todas aquellas que presentan receptáculo extendido: *Lomaridium*, *Lomaria*, *Cranfillia* excepto *C. sampaioana*, *Austroblechnum* y *Parablechnum*, y que, como ya hemos comentado, representan linajes especializados hacia condiciones derivadas acrosticoides.

Las especies monomórficas y subdimórficas presentan siempre el perfil plano y la estructura indusial simple (*Woodwardia*, *Anchistea*, *Telmatoblechnum*, *Blechnum*, *Doodia*, *Neoblechnum* y *Oceaniopteris cartilagineum*). En estos casos, la lámina no está curvada y por tanto no protege al soro o cenosoro, pero sin embargo, al ser especies monomórficas, la relación entre perfil de la pinna y estructura indusial que hemos comentado anteriormente, puede estar mediada por la diferenciación foliar, y sólo hacerse efectiva en aquellos géneros que hayan mantenido el estado dimórfico, que son la mayoría de ellos.

Salpichlaena y *Blechnopsis* representan casos particulares, pues ambas tienen estructura indusial compleja y pinnas planas, siendo la primera subdimórfica y la

segunda monomórfica. Esta aparente contradicción con nuestro argumento arriba expresado, que supondría un estado evolutivo intermedio entre los casos anteriores, se podría resolver aumentando el muestreo al resto de especies de *Salpichlaena*, al resto de los géneros filogenéticamente próximos a *Blechnopsis* (*Sadleria* y *Cleistoblechnum*), de los que no se dispone de información.

Como ya se ha comentado, hay una tendencia general en la pteridología a considerar que el estado monomórfico es ancestral y de él deriva el estado dimórfico (Wagner & Wagner, 1977; Pryer *et al.*, 1995; Schneider, 2013).

Estudiando la combinación de los caracteres perfil abaxial de la costa y número de haces vasculares, resulta llamativa la correlación que parecen tener ambos caracteres en el caso de los taxones que tienen más de dos haces vasculares y el perfil abaxial de la costa curvado o carinado. Esto puede estar relacionado con una necesidad física de más espacio en la costa para ese mayor número de haces. Esto parece contradecir los casos en que las especies con perfil abaxial de la costa curvado o carinado pero con 1 ó 2 haces vasculares, si bien se pueden considerar el paso evolutivo previo a la ruptura de la estela (Martinez & Vilte, 2012).

Además, al combinar el número de células del anillo con el carácter longitud de las células de la roseta, se puede observar como las especies estudiadas del superclado A comparten como sinapomorfía, de nuevo, el estado longitud de las células de la roseta largas, a excepción de la especie *Cranfillia sprucei*. A su vez, dicho estado (longitud células de la roseta largas) lo presentan especies con un número de células del anillo bajo o medio, nunca aparece asociado a un número alto. Hasta donde se conoce, no hay estudios previos sobre la relación mecánica que pudiera existir entre roseta y anillo, por lo que se debe profundizar en estos aspectos morfológicos relevantes para los leptosporangiados.

Si bien se viene haciendo un esfuerzo de conciliación entre morfología y datos moleculares (Schneider *et al.*, 2009), no pocas veces se han encontrado contradicciones aparentemente insalvables. Por ejemplo, y en lo que estamos tratando, los resultados aquí señalados llevan a pensar que algunos de los géneros propuestos recientemente con datos moleculares (Gasper *et al.*, 2016a; Gasper *et al.*, 2016b), como *Cranfillia* y *Oceaniopteris*, pueden no ser géneros naturales, dada la disparidad de caracteres

morfológicos/anatómicos que presentan sus especies, y que, como venimos comentando, son relevantes en lo diagnóstico para el resto de clados.

a) *Oceaniopteris*, género en el cual las dos especies estudiadas difieren en diferenciación foliar, estructura con función indusial, perfil abaxial de la costa, número de células del anillo, forma del receptáculo y tipo esporal.

b) *Cranfillia*, género en el cual las tres especies estudiadas difieren en perfil de la pinna, perfil adaxial de la costa, longitud de las células de la roseta, tipo de receptáculo, estructura de función indusial y tipo esporal.

Estos resultados, sobre todo teniendo en cuenta que algunos de los caracteres tienen un índice de retención significativo, y el número de caracteres involucrados, inducen a pensar pues que los géneros *Oceaniopteris* y *Cranfillia* puedan ser no naturales, por lo que se hace necesaria una monografía de ambos géneros para verificar la posición taxonómica de las especies inmersas en ellos.

Adicionalmente, también se puede comentar el caso de *Parablechnum loxense*, una especie monomórfica dentro de un gran clado dimorfo. Este monomorfismo con pinnas curvadas se podría explicar como una adaptación fenotípica al ambiente en el que vive, la puna y los páramos altoandinos (Tryon & Stolze, 1993), además este carácter tiene un bajo índice de retención, lo cual hace que haya que ser cauteloso a la hora de usarlo como diagnóstico. Los helechos de los páramos presentan una serie peculiar de adaptaciones morfológicas, tanto en el esporófito como en el gametófito, encaminadas a reducir los efectos del frío, el fuego y la deshidratación (Barrington, 2005; Gabriel y Galan *et al.*, 2011). Quizá la reducción extrema de las pinnas de *P. loxense*, tanto de las estériles como de las fértiles (lo que deriva en que se considere monomorfo), sea una respuesta a este peculiar ecosistema.

CONCLUSIONES

En este trabajo se ha ampliado el conocimiento sistemático de la familia de helechos leptosporangiados Blechnaceae (Polypodiopsida).

El género *Lomaridium* es monofilético y su historia biogeográfica se resuelve en cuatro eventos de dispersión partiendo del centro y sur de América: un primer evento con la dispersión transoceánica del linaje de *L. contiguum* a Nueva Caledonia (~23Ma); un segundo evento de divergencia del clado *L. schottii*, que sufrió una dispersión y una posterior especiación (~18Ma); un tercer evento de dispersión de larga distancia a Madagascar del clado *L. attenuatum* (~13Ma), seguido de eventos de especiación y posterior dispersión al continente africano; y finalmente un último evento de dispersión al Caribe de *L. binervatum*.

El complejo *Parablechnum cordatum* está compuesto por tres entidades, *Parablechnum chilense*, *P. cordatum* y *P. schiedeanum*, que se pueden considerar como buenas especies según la información molecular del cloroplasto, y que presentan áreas de distribución geográficamente separadas.

Se amplía el conocimiento anatómico de las especies de la familia Blechnaceae en 12 especies, lo que permite realizar un primer esquema cladístico de los caracteres morfológicos que son significativos en la evolución de las Blechnaceae. Se realiza también un primer intento de asociar razones evolutivas para el estado morfológico/anatómico actual de las especies de estudio.

Se detectan los siguientes estados como ancestrales para la familia Blechnaceae: dimorfismo; perfil de la pinna plano; perfil adaxial de la costa surcado y abaxial carinado; 1 ó 2 haces costales con xilema recto; soros discretos, si bien muy pronto en la diversificación de la familia aparece el carácter sinapomórfico cenosoro, compartido por las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae; receptáculo definido y plano; modelo epidérmico del indusio poligonal; número de células del anillo medio (18-25); tipo esporal V. El estado ancestral para el carácter longitud de las células de la roseta no llega a resolverse, si bien pronto en la diversificación de la familia aparecen las células de la roseta cortas, estado compartido por las subfamilias Stenochlaenoideae y Blechnoideae. El estado ancestral común para las tres subfamilias de las Blechnaceae

para la estructura con función indusial no se resuelve, pero sí se llega a conocer el estado ancestral para la subfamilia Blechnoideae, que es la estructura indusial compleja.

Los caracteres estudiados muestran un significativo valor diagnóstico en todos los casos y la combinación de ellos puede ser muy útil en la determinación de las especies de la familia Blechnaceae. Algunos de ellos además han demostrado tener valor cladístico y ser informativos desde un punto de vista evolutivo, como es el caso del perfil abaxial de la costa, el tipo de soro, el tipo de receptáculo y el tipo esporal. El estudio cladístico de alguno de ellos, mayoritariamente la diferenciación foliar, disipa dudas abiertas hasta el momento en cuanto a utilizar dicho carácter como base para una clasificación. El estudio cladístico de la estructura con función indusial propone nuevas vías de entendimiento de la familia.

Sería interesante una futura línea de investigación que continuara con el estudio cladístico de estos y más caracteres, en los géneros no estudiados en este trabajo. Se considera, a la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, que este estudio, sería de gran relevancia a la hora de desentrañar la historia evolutiva de los caracteres y de las especies en cuestión. En este caso, se podría ampliar la significación filogenética incluyendo test de señal filogenética, como ya se ha hecho en estudios recientes de morfología de helechos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aldasoro JJ, Cabezas F, Aedo C. 2004. Diversity and distribution of ferns in sub-Saharan Africa, Madagascar and some islands of the South Atlantic. *Journal of Biogeography* 31: 1579-1604.
- Bancroft H. 1932. A fossil cyatheoid stem from Mount Elgon, East Africa. *New Phytologist* 31: 241-253.
- Barker MS, Wolf PG. 2010. Unfurling fern biology in the genomics age. *Bioscience* 60: 177-185.
- Barrington DS. 1993. Ecological and historical factors in fern biogeography. *Journal of Biogeography* 20: 275-280.
- Barrington DS. 2005. Helechos de los páramos de Costa Rica. In: Kappelle M and Horn SP, eds. *Páramos de Costa Rica*. San José: INBio. 375-395.
- Bateman RM, Crane PR, DiMichele WA, Kenrick P, Rowe NP, Speck T. 1988. Early evolution of land plants: phylogeny, physiology, and ecology of the primary terrestrial radiation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 29: 263-292.
- Benl G. 1971. Fern hunting in Madeira. *British Fern Gazette* 10: 165-222.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu C-H, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond AJ. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis *PLOS Computational Biology*.
- Bower FO. 1914. Studies in the phylogeny of the filicales. IV *Blechnum* and allied genera. *Annals of Botany* 28: 363-431.
- Bower FO. 1923. *The Ferns (Filicales). Vol 1. Analytical examination of the criteria of comparison*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Bower FO. 1928. *The Ferns (Filicales). Vol. 3. The Leptosporangiate Ferns*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Burnham RJ, Johnson KR. 2004. South American palaeobotany and the origins of neotropical rainforests. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359: 1595-1610.
- Cantino PD, Doyle JA, Graham SW, Judd WS, Olmstead RG, Soltis DE, Soltis PS, Donoghue MJ. 2007. Towards a phylogenetic nomenclature of *Tracheophyta*. *Taxon* 56: 822-846.
- Cavalli-Sforza LL, Edwards WF. 1967. Phylogenetic analysis models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* 19: 233-257.
- Collinson ME. 2001. Cainozoic ferns and their distribution. *Brittonia* 53: 173-235.
- Copeland EB. 1947. Genera Filicum - The genera of ferns. *Annales Cryptogamici et Phytopathologici* 5: 1-247.

- Cranfill R, Kato M. 2003. Phylogenetics, biogeography, and classification of the woodwardioid ferns (Blechnaceae). In: Chandra S and Srivastava M, eds. *Pteridology in the New Millennium*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Cranfill RB. 2001. Phylogenetic studies in the Polypodiales (Pteridophyta) with an emphasis on the family Blechnaceae. University of California.
- Crisci JV, Stuessy TF. 1980. Determining primitive character states for phylogenetic reconstruction. *Systematic Botany* 5: 112-135.
- Chambers TC. 2013. A review of the genus *Stenochlaena* (Blechnaceae, subfamily Stenochlaenoideae). *Telopea - Journal of Plant Systematics* 15: 13-36.
- Chambers TC, Farrant PA. 1998a. Blechnaceae: *Blechnum*, *Pteridoblechnum* and *Stenochlaena*. *Flora of Australia* 48: 359-384.
- Chambers TC, Farrant PA. 1998b. The *Blechnum procerum* ("capense") (Blechnaceae) complex in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 36: 1-19.
- Chambers TC, Farrant PA. 2001. Revision of *Blechnum* (Blechnaceae) in Malesia. *Blumea* 46: 283-350.
- Christenhusz MJM, Chase MW. 2014. Trends and concepts in fern classification. *Annals of Botany* 0: 1-24.
- Christenhusz MJM, Zhang XC, Schneider H. 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa* 19: 7-54.
- Dalgallo Rocha L, Droste A, Gehlen G, Schmitt JL. 2013. Leaf dimorphism of *Microgramma squamulosa* (Polypodiaceae): a qualitative and quantitative analysis focusing on adaptations to epiphytism. *Revista de Biología Tropical* 61: 291-299.
- Darriba D, Taboada G, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772-772.
- Darwin C. 1859. *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. John Murray: United Kingdom.
- De la Sota ER. 1972. Notas sobre especies austrosudamericanas del género *Blechnum* L. (Blechnaceae-Pteridophyta). *III Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 14: 177-184.
- Der JP, Barker MS, Wickett NJ, dePamphilis CW, Wolf PG. 2011. *De novo* characterization of the gametophyte transcriptome in bracken fern, *Pteridium aquilinum* *BMC Genomics*.
- Dickason FG. 1946. A phylogenetic study of the ferns of Burma *Reprinted from abstracts of doctoral dissertations, No. 50*. Columbus Ohio: The Ohio State University Press.

- Dittrich VAO. 2005. Estudos taxonômicos no gênero *Blechnum* L. (Pteridophyta-Blechnaceae) para as regiões Sudeste e Sul do Brasil. Universidad Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho.
- Dittrich VAO, Smith AR, Gasper AL. 2017. *Parablechnum roraimense* and *P. paucipinna* spp. nov. (Blechnaceae: Polypodiopsida), lectotypification of *P. stuebelii*, and citation corrections in the family. *Phytotaxa* 292: 65-73.
- Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A. 2006. Relaxed phylogenies and dating with confidence. *PLOS Biology* 4: 699-710.
- Drummond AJ, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis y sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214-222.
- Durán M. 1997. *Estudios morfológicos, taxonômicos y biosistemáticos en el género Blechnum (Blechnaceae-Pteridophyta)*. Universidad Nacional de Córdoba: Córdoba, Argentina.
- Dyer RJ, Savolainen V, Schneider H. 2012. Apomixis and reticulate evolution in the *Asplenium monanthes* fern complex. *Annals of Botany* 110: 1515-1529.
- Ebihara A, Ishikawa H, Matsumoto S, Lin S-J, Iwatsuki K, Takamiya M, Watano Y, Ito M. 2005. Nuclear DNA, chloroplast DNA, and ploidy analysis clarified biological complexity of the *Vandenboschia radicans* complex (Hymenophyllaceae) in Japan and adjacent areas. *American Journal of Botany* 92: 1535-1547.
- Farrar DR, Dassler C, Watkins JE, Skelton C. 2008. Gametophyte ecology. In: Ranker TA and Hauffler CH, eds. *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. Cambridge: Cambridge University Press. 222-256.
- Farris JS. 1989. The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5: 417-419.
- Font Quer P. 1975. *Diccionario de botánica*. Labor: Barcelona.
- Funk VA, Stuessy TF. 1978. Cladistics for the practicing plant taxonomist. *Systematic Botany* 3: 159-178.
- Gabriel y Galán JM, Migliaro G, Lahoz-Beltrá R. 2011. Effect of temperature and dark pre-treatment in the germination of three species of *Jamesonia* (Pteridaceae, Polypodiopsida). *Plant Species Biology* 26: 254-258.
- Gabriel y Galán JM, Passarelli L, Prada C, Rolleri CH. 2008. Sporophyte morphology and gametophyte development of the fern *Blechnum sprucei* (Pteridophyta: Blechnaceae). *Revista de Biología Tropical* 56: 2027-2040.
- Gabriel y Galán JM, Prada C, Rolleri C, Ainouche A, Vicent M. 2013. cpDNA supports the identification of the major lineages of American *Blechnum* (Blechnaceae, Polypodiopsida) established by morphology. *Turkish Journal of Botany* 37: 769-777.

- Gao L, Wang B, Wang ZW, Zhou Y, Su YJ, Wang T. 2013. Plastome sequences of *Lygodium japonicum* and *Marsilea crenata* reveal the genome organization transformation from basal ferns to core leptosporangiates. *Genome Biology and Evolution* 5: 1403-1407.
- Gao L, Yi X, Yang Y-X, Su Y-J, Wang T. 2009. Complete chloroplast genome sequence of a tree fern *Alsophila spinulosa*: insights into evolutionary changes in fern chloroplast. *BMC Evolutionary Biology* 9: 130-144.
- Gasper AL, Almeida TE, Dittich VAO, Smith AR, Salino A. 2016a. Molecular phylogeny of the fern family Blechnaceae (Polypodiales) with a revised genus-level treatment. *Cladistics* 0: 1-18.
- Gasper AL, Dittich VAO, Smith AR, Salino A. 2016b. A classification for Blechnaceae (Polypodiales: Polypodiopsida): New genera, resurrected names, and combinations. *Phytotaxa* 275: 191-227.
- Gifford EM, Foster AS. 1996. *Morphology and evolution of vascular plants*. Freeman: New York.
- Giudice GE, Luna ML, Carrión C, de la Sota ER. 2008. Revision of the genus *Saplichlaena* J. Sm. (Blechnaceae, Pteridophyta). *American Fern Journal* 98: 49-61.
- González GE, Prada C, Rolleri CH. 2010. Nuevo recuento cromosómico para *Blechnum hastatum* (Blechnaceae - Pteridophyta), con un estudio de la ontogenia y tipo de leptosporangios adultos. *Gayana Botanica* 67: 52-64.
- Gurr L. 1966. *The rational use of dyes in biology*. Williamson and Wilkers: Baltimore.
- Haider K. 1954. Zur Morphologie und Physiologie der Sporangien Leptosporangiaten Farne. *Pflanze* 44: 370-411.
- Hasebe M, Omori T, Nakazawa M, Sano T, Kato M, Iwatsuki K. 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* 91: 5730-5734.
- Hasebe M, Wolf PG, Pryer KM, Ueda K, Ito M, Sano R, Gastony GJ, Yokoyama J, Manhart JR, Murakami N, Crane EH, Haufler CH, Hauk WD. 1995. Fern phylogeny based on *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 85: 134-181.
- Haufler CH. 2008. Species and speciation. In: Ranker TA and Haufler CH, eds. *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. Cambridge: University Press. 303-331.
- Haufler CH, Soltis DE. 1986. Genetic evidence suggests that homosporous ferns with high chromosome numbers are diploid. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* 83: 4389-4393.

- Hennequin S, Hovenkamp P, Christenhusz MJM, Schneider H. 2010. Phylogenetics and biogeography of *Nephrolepis* - a tale of old settlers and young tramps. *Botanical Journal of the Linnean Society* 164: 113-127.
- Herbst R, Anzótegui LM, Jalfin LG. 1987. Estratigrafía, paleoambiente y dos especies de *Salvinia* Adanson (Filicopsida) del Mioceno superior de Salta, Argentina. *Facena* 7: 1542.
- Hill RS, Jordan GJ. 1998. The fossil record of ferns and fern allies in Australia *Flora of Australia*. Canberra: CSIRO Publishing. 29-36.
- Holmgren PK, Holmgren NH, Barnett L. 1990. *Index Herbariorum, Part I: Herbaria of the World*. New York Botanical Garden: New York, EEUU.
- How Y, Yau Y, Kah H. 2010. *Blechnum orientale* L. - a fern with potential as antioxidant, anticancer and antibacterial agent. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 10.
- Johnson AD. 2005. Morphological and molecular methods for creating phylogenetic trees. In: O'Donnell MA, ed. *Tested Studies for Laboratory Teaching: Proceedings of the 26th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*. 452 p.
- Jørgensen PM, Nee MH, Beck SG. 2014. *Catálogo de las plantas vasculares de Bolivia, Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden*. Missouri Botanical Garden Press St. Louis.
- Juslén A, Väre H, Wikström N. 2011. Relationships and evolutionary origins of polyploid *Dryopteris* (Dryopteridaceae) from Europe inferred using nuclear *pgiC* and plastid *trnL-F* sequence data. *Taxon* 60: 1284-1294.
- Kasmirczak C. 1999. A familia Blechnaceae (C. Presl) Copel. (Pteridophyta) no Rio Grande do Sul. Unpublished Grau do Mestre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Kato M. 1993. Biogeography of ferns: dispersal and vicariance. *Journal of Biogeography* 20: 265-274.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647-1649.
- Kenrick P, Crane PR. 1997. The origin and early evolution of plants on land. *Nature* 389: 33-39.
- Khandelwal S. 1990. Chromosome evolution in the genus *Ophioglossum* L. *Botanical Journal of the Linnean Society* 102: 205-217.
- Knoll AH, Niklas KJ. 1987. Adaptation, plant evolution, and the fossil record. *Review of Palaeobotany and Palynology* 50: 127-149.

- Koenemann DM, Maisonpierre JA, Barrington DS. 2011. Broad-scale integrity and local divergence in the fiddlehead fern *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro (Onocleaceae). *American Fern Journal* 101: 213-230.
- Korall P, Pryer KM. 2014. Global biogeography of scaly tree ferns (Cyatheaceae): evidence for Gondwanan vicariance and limited transoceanic dispersal. *Journal of Biogeography* 41: 402-413.
- Kramer K, Chambers T, Hennipman E. 1990. Blechnaceae. In: Kramer K and Green P, eds. *The families and genera of vascular plants: I. Pteridophytes and Gymnosperms*. Berlin: Springer.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA 7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874.
- Kuo L-Y, Li F-W, Chiou W-L, Wang C-N. 2011. First insights into fern *matK* phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 696-707.
- Kurita S. 1986. Chromosome studies on South American pteridophytes (1) *Contributions to the Botany of the Andes (II)*. 47-67.
- Labiak PH, Sundue M, Rouhan G. 2010. Molecular phylogeny, character evolution, and biogeography of the grammitid fern genus *Lellingeria* (Polypodiaceae). *American Journal of Botany* 97: 1354-1365.
- Landis MJ, Matzke NJ, Moore BR, Huelsenbeck JP. 2013. Bayesian analysis of biogeography when the number of areas is large. *Systematic Biology* 62: 789-804.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Lellinger DB. 2002. *A modern multilingual glossary of taxonomic pteridology*. Pteridologia 3.
- Li C-X, Lu S-G. 2006. Phylogenetics of Chinese Dryopteris (Dryopteridaceae) based on the chloroplast rps4-trnS sequence data. *Journal of Plant Research* 119: 589-599.
- Li F-W, Pryer KM. 2014. Crowdfunding the Azolla fern genome project: a grassroots approach *GigaScience*.
- Linnaeus C. 1797. *Species plantarum*. Impensis G. C. Nauk.
- Lipscomb DL. 1998. *Basics of cladistic analysis*. George Washington University: Washington, DC.
- Lu J-M, Wen J, Lutz S, Wang Y-P, Li D-Z. 2012. Phylogenetic relationships of Chinese *Adiantum* based on five plastid markers. *Journal of Plant Research* 125: 237-249.

- Maddison WP, Maddison DR. 2009. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 2.6. Website <http://mesquiteproject.org>.
- Martínez OG, Vilte I. 2012. The structure of petioles in *Pteris* (Pteridaceae). *American Fern Journal* 102: 1-10.
- Matzke NJ. 2014. Model selection in historical biogeography reveals that founder-event speciation is a crucial process in island cades. *Systematic Biology* 63: 951-970.
- Mehlreter K, Walker LR, Sharpe JM. 2010. *Fern ecology*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Mickel JT, Smith AR. 2004. The Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 88: 1-1054.
- Moore T. 1857. *Index filicum: a synopsis, with characters, of the genera, and an enumeration of the species of ferns, with synonymes, references, &c., &c.* W. Pamplin: London.
- Moran RC. 1987. Sterile-fertile leaf dimorphism and evolution of soral types in *Polybotrya* (Dryopteridaceae). *Systematic Botany* 12: 617-628.
- Moran RC. 1995. Blechnaceae. In: Davidse G, Souza M and Knapp S, eds. *Flora Mesoamericana I, Psilotaceae Salvinaceae*. London: Universidad Autónoma de México, Missouri Botanical Garden & The Natural History Museum.
- Moran RC, Hanks JG, Labiak P, Sundue M. 2010. Perispore morphology of Bolbitidoid ferns (Dryopteridaceae) in relation to phylogeny. *International Journal of Plant Sciences* 171: 872-881.
- Moran RC, Smith AR. 2001. Phytogeographic relationships between neotropical and African-Madagascan pteridophytes. *Brittonia* 53: 304-351.
- Morton CV, Lellinger DB. 1967. Notes on the ferns of Dominica and St. Vincent. *American Fern Journal* 57: 66-78.
- Murakami N, Nogami S, Watanabe M, Iwatsuki K. 1999. Phylogeny of Aspleniaceae inferred from *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 89: 232-243.
- Naumann J, Symmank L, Samain M-S, Müller KF, Neinhuis C, de Pamphilis CW, Wanke S. 2011. Chasing the hare - Evaluating the phylogenetic utility of a nuclear single copy gene region at and below species level within the species rich group *Peperomia* (Piperaceae). *BMC Evolutionary Biology* 11: 357.
- Navarrete H, Pitman N. 2003. *Blechnum dendrophillum* The IUCN Red List of Threatened Species 2003.
- Nayar BK. 1966. Morphology of the fertile leaves of the Lomariopsidaceae, with special reference to the venation. *New Phytologist* 65: 221-238.
- Nelson G. 1973. Classification as an expression of phylogenetic relationships. *Systematic Biology* 22: 344-359.
- Newman E. 1854. *A history of British ferns*. J. van Voorst.

- Nixon KC, Carpenter JM. 1996. On simultaneous analysis. *Cladistics* 12: 221-241.
- Page CN. 2002. Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. *Review of Palaeobotany and Palynology* 119: 1-33.
- Palmer DD. 1997. A revision of the genus *Sadleria* (Blechnaceae). *Pacific Science* 51: 288-305.
- Parris BS. 1972. The genus *Doodia* R.Br. (Blechnaceae: Filicales) in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 10: 585-604.
- Parris BS. 2001. Circum-Antarctic continental distribution patterns in pteridophyte species. *Brittonia* 53: 270-283.
- Parris BS. 2006. *Flora of tropical East Africa: Blechnaceae*. Kew: London.
- Passarelli L. 2007. Estudios esporales en especies del grupo *Blechnum penna-marina* (Blechnaceae - Pteridophyta). *Acta Botanica Malacitana* 32: 1-19.
- Passarelli LM, Gabriel y Galán JM, Prada C, Rolleri CH. 2010. Spore morphology and ornamentation in the genus *Blechnum* (Blechnaceae). *Grana* 49: 243-262.
- Perrie LR, Brownsey P. 2007. Molecular evidence for long-distance dispersal in the New Zealand pteridophyte flora. *Journal of Biogeography* 34: 2028-2038.
- Perrie LR, Wilson RK, Shepherd LD, Ohlsen DJ, Batty EL, Brownsey PJ, Bayly MJ. 2014. Molecular phylogenetics and generic taxonomy of Blechnaceae ferns. *Taxon* 63: 745-758.
- Pichi-Sermolli REG. 1977. Tentamen Pteridophytorum genera in taxonomicum ordinem redigendi. *Weebia* 31: 313-512.
- Pigg KB, Rothwell GW. 2001. Anatomically preserved *Woodwardia virginica* (Blechnaceae) and a new filiclean fern from the middle Miocene Yakima Canyon Flora of Central Washington, USA. *American Journal of Botany* 88: 777-787.
- PPG1. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution* 54: 563-603.
- Prabhakar M. 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica* 46: 242-252.
- Prada C. 2004. Helechos. In: Izco J, ed. *Botánica*. Madrid: McGraw Hill. 385-415.
- Prada C, Gabriel y Galán JM, Sáiz P, Passarelli L, Ciciarelli MM, Rolleri C. 2016. Caracteres diagnósticos de frondas esporógenas y esporangios de *Blechnum* (Blechnaceae). *Iheringia Série Botânica* 71: 1-14.
- Prada C, Rolleri CH, Passarelli L. 2008. Morfología, caracterización y distribución geográfica de *Blechnum cordatum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Acta Botanica Malacitana* 33: 1-18.
- Presl CB. 1851. *Epimeliae Botanicae*. Amadei Haase: Praga.

- Pryer K, Schuettpelz E, Wolf P, Schneider H, Smith A, Cranfill R. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. *American Journal of Botany* 91: 1582-1598.
- Pryer KM, Smith AR, Skog JE. 1995. Phylogenetic Relationships of Extant Ferns Based on Evidence from Morphology and rbcL Sequences. *American Fern Journal* 85: 205-300.
- Rai HS, Graham SW. 2010. Utility of a large, multigene plastid data set in inferring higher-order relationships in ferns and relatives (Monilophytes). *American Journal of Botany* 97: 1444-1456.
- Rakotondrainibe F, Jouy A, Meyer S, Reeb C. 2013. Révision synoptique du genre *Blechnum* L. (Blechnaceae)   Madagascar. *Adansonia* 35: 151-193.
- Ramos Giacosa JP, De la Sota ER, Giúdice GE. 2004. Actuación florística y análisis numérico de la biodiversidad de las pteridofitas de la provincia de Buenos Aires. *Boletín de la Sociedad Argentina de Bot nica* 39: 125-130.
- Ramos Giacosa JP, De la Sota ER, Giúdice GE. 2006. *Blechnum cordatum* (Blechnaceae): nueva cita para la flora del noroeste de la Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Bot nica* 41: 91-93.
- Ree RH, Smith SA. 2008. Maximum likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. *Systematic Biology* 57: 4-14.
- Ricci M. 1996. Variation in distribution and abundance of the endemic flora of Juan Fernández Islands, Chile. Pteridophyta. *Biodiversity & Conservation* 5: 1521-1532.
- Rodrigo C, Lara LE. 2014. Plate tectonics and the origin of the Juan Fernández Ridge: analysis of bathymetry and magnetic patterns. *Latin American Journal of Aquatic Research* 42: 907-917.
- Rodríguez Ríos R. 1995. Pteridophyta. In: Marticorena C and Rodríguez Ríos R, eds. *Flora de Chile, I*. Concepción, Chile: Ediciones de la Universidad de Concepción.
- Rodríguez Ríos R. 2015. Notas taxonómicas sobre Pteridófitos chilenos. *Gayana Botanica* 72: 94-100.
- Rolleri C, Prada C. 2006a. Revisión de los grupos de especies del género *Blechnum* (Blechnaceae - Pteridophyta): el grupo *B. penna-marina*. *Acta Botanica Malacitana* 31: 7-50.
- Rolleri C, Prada C. 2006b. Catálogo comentado de las especies de *Blechnum* L. (Blechnaceae, Pteridophyta) de Mesoamérica y Sudamérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63: 67-107.
- Rolleri C, Prada C, Passarelli L. 2008. Estudios morfológicos y taxon micos en *Blechnum* (Blechnaceae - Pteridophyta): *B. tabulare* y *B. magellanicum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65: 179-195.

- Rolleri C, Prada C, Passarelli L, Gabriel y Galán JM. 2012a. Revisión de dos especies de *Blechnum* de las regiones montañosas tropicales e intertropicales de Centroamérica y Sudamérica. *Actes du Colloque Les Fougères d'Alsace, d'Europe et du Monde* 1: 149-161.
- Rolleri C, Prada C, Passarelli L, Gabriel y Galán JM, Ciciarelli MM. 2012b. Revisión de especies monomorfas y subdimorfas del género *Blechnum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Botanica Complutensis* 36: 51-79.
- Rolleri C, Prada C, Gabriel y Galán JM, Passarelli L, Ciciarelli MM. 2010. Morphology of the sporophyte and gametophyte of the swamp fern, *Blechnum serrulatum* (Blechnaceae, Pteridophyta). *Australian Journal of Botany* 58: 508-518.
- Rolleri C, Prada C, Gabriel y Galán JM, Passarelli L. 2013. Especies arborescentes del género *Blechnum* (Blechnaceae: Pteridophyta). *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology and Conservation)* 61: 377-409.
- Ronquist F, Huesenbeck J. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1575.
- Röbber R. 2000. The late Palaeozoic tree fern *Psaronius* - an ecosystem unto itself. *Review of Palaeobotany and Palynology* 108: 55-74.
- Rothfels CJ, Li F-W, Sigel EM, Huie L, Larsson A, Burge DO, Ruhsam M, Deyholos M, Soltis DE, Stewart CNJ, Shaw SW, Pokorny L, Chen T, dePamphilis C, DeGironimo L, Chen L, Wei X, Sun X, Korall P, Stevenson DW, Graham SW, Wong GK-S, Pryer KM. 2015. The evolutionary history of ferns inferred from 25 low-copy nuclear genes. *American Journal of Botany* 102: 1-19.
- Rothfels CJ, Sundue MA, Kuo L-Y, Larsson A, Kato M, Schuettpelz E, Pryer KM. 2012. A revised family-level classification for eupolypod II ferns (Polypodiidae: Polypodiales). *Taxon* 61: 515-534.
- Rothwell GR, Stockey RA. 2008. Phylogeny and evolution of ferns: a paleontological perspective. In: Ranker TA and Hauffler CH, eds. *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. New York: Cambridge University Press.
- Rothwell GW. 1999. Fossils and ferns in the resolution of land plant phylogeny. *The Botanical Review* 65: 188-218.
- Rothwell GW, Stockey RA. 1989. Fossil Ophioglossales in the Paleocene of western North America. *American Journal of Botany* 76: 637-644.
- Roux JP. 2009. *Synopsis of the Lycopodiophyta and Pteridophyta of Africa, Madagascar and neighbouring islands*. South African National Biodiversity Institute: Pretoria.
- Ruzin SE. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press: London.
- Salvo E. 1990. *Guía de helechos de la Península Ibérica y Baleares*. Pirámide: Madrid.

- Savolainen V, Chase MW. 2003. A decade of progress in plant molecular phylogenetics. *Trends in Genetics* 19: 717-724.
- Scheckler SE. 1974. Systematic characters of Devonian ferns. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 462-473.
- Schelpe E. 1952. A revision of the African species of *Blechnum*. *Journal of the Linnean Society of London. Botany* 53: 487-510.
- Schneider H. 2013. Evolutionary morphology of ferns (Monilophytes). In: Evans D, Graumann K and Cryan JA, eds. *Annual Plant Review 46: Plant nuclear structure, genome architecture and gene regulation*. London: John Wiley & Sons. 115-140.
- Schneider H, Russell SJ, Cox CJ, Bakker F, Henderson S, Rumsey F, Barrett J, Gibby M, Vogel JC. 2004a. Chloroplast phylogeny of Asplenioid ferns based on *rbcL* and *trnL-F* spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implications for biogeography. *Systematic Botany* 29: 260-274.
- Schneider H, Schuettpelz E, Pryer KM, Cranfill R, Magallon S, Lupia R. 2004b. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428: 553-557.
- Schneider H, Smith AR, Pryer KM. 2009. Is morphology really at odds with molecules in estimating fern phylogeny? *Systematic Biology* 34: 455-475.
- Schuettpelz E, Pryer KM. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. *TAXON* 56: 1037-1050.
- Schuettpelz E, Pryer KM. 2008. Fern phylogeny. In: Ranker TA and Hauffler CH, eds. *Biology and evolution of ferns and lycophytes*. Cambridge: Cambridge University Press. 395-416.
- Schuettpelz E, Pryer KM. 2009. Evidence for a Cenozoic radiation of ferns in an angiosperm-dominated canopy. *PNAS* 106: 11200-11206.
- Serbet R, Rothwell GW. 2003. Anatomically preserved ferns from the Late Cretaceous of western North America: Dennstaedtiaceae. *International Journal of Plant Sciences* 164: 1041-1051.
- Serbet R, Rothwell GW. 2006. Anatomically preserved ferns from the late Cretaceous of western North America. II. Blechnaceae (Dryopteridaceae). *International Journal of Plant Sciences* 167: 703-709.
- Sessa EB, Zimmer EA, Givnish TJ. 2012. Phylogeny, divergence times, and historical biogeography of New World Dryopteris (Dryopteridaceae). *American Journal of Botany* 99: 730-750.
- Shepherd LD, Perrie LR, Parris BS, Brownsey PJ. 2007. A molecular phylogeny for the New Zealand Blechnaceae ferns from analyses of chloroplast *trnL-trnF* DNA sequences. *New Zealand Journal of Botany* 45: 67-81.

- Smith AR, Foster MS. 1984. Chromosome numbers and ecological observations of ferns from El Tirol, Paraguay. *British Fern Gazette* 12: 321-329.
- Smith AR, Pryer KM, Schuettpelz E, Korall P, Schneider H, Wolf PG. 2006a. A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705-732.
- Smith SY, Stockey RA, Nishida H, Rothwell GW. 2006b. *Trawetsia princetonensis* gen. et sp. nov. (Blechnaceae): A permineralized fern from the middle Eocene Princeton Chert. *International Journal of Plant Sciences* 167: 711-719.
- Sodiro L. 1893. Cryptogamea Vasculares Quitenses. *Anales de la Universidad Central de Ecuador* 8: 141-157.
- Soltis DE, Soltis PS. 1990. Polyploidy, breeding systems, and genetic differentiation in homosporous pteridophytes. In: Soltis DE and Soltis PS, eds. *Isozymes in plant biology*. Washington: Pullman. 241-258.
- Souza-Chies TT, Bittar G, Nadot S, Carter L, Besin E, Lejeune B. 1997. Phylogenetic analysis of *Iridaceae* with parsimony and distance methods using the plastid gene *rps4*. *Plant Systematics and Evolution* 204: 109-124.
- Spalink D, Drew BT, Pace MC, Zaborsky JG, Starr JR, Cameron KM, Givnish TJ, Sytsma KJ. 2016. Biogeography of the cosmopolitan sedges (Cyperaceae) and the area-richness correlation in plants. *Journal of Biogeography*: 1-12.
- Stewart WN, Rothwell GW. 1993. *Paleobotany and the evolution of plants*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Sundue MA, Rothfels CJ. 2014. Stasis and convergence characterize morphological evolution in eupolypod II ferns. *Annals of Botany* 113: 35-54.
- Taberlet P, Gielly L, Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *PLant Molecular Biology* 17: 1105-1110.
- Talavera S. 2004. Taxonomía Vegetal. In: Izco JC, ed. *Botánica* 2ed. Madrid: McGraw Hill. 1-32.
- Taylor E, Taylor T, Krings M. 2009a. *Paleobotany: the biology and evolution of fossil plants*. Elsevier: Burlington, USA.
- Taylor TN, Taylor EL, Krings M. 2009b. *Paleobotany: the biology and evolution of fossil plants*. Academic Press: Burlington.
- Tidwell WD, Ash SR. 1994. A review of selected Triassic to Early Cretaceous ferns. *Journal of Plant Research* 107: 417-442.
- Tomescu AMF, Rothwell GW, Trivett ML. 2006. Kaplanopteridaceae fam. nov., additional diversity in the initial radiation of filiclean ferns. *International Journal of Plant Sciences* 167: 615-630.
- Tryon AF, Lugardon B. 1991. *Spores of the Pteridophyta*. Springer: New York.

- Tryon RM, Stolze RG. 1993. Pteridophyta of Peru. Part V: Aspleniaceae-Polypodiaceae. *Fieldiana: Botany* 32: 54-70.
- Tryon RM, Tryon AF. 1982. Ferns and allied plants with special reference to tropical America. New York: Springer. 857.
- Van Konijnenburg-Van Cittert JHA. 1989. Dicksoniaceae spores *in situ* from the Jurassic of Yorkshire, England. *Review of Palaeobotany and Palynology* 61: 273-301.
- Vasco A, Moran RC, Ambrose BA. 2013. The evolution, morphology, and development of fern leaves. *Frontiers in Plant Science* 4: 1-16.
- Vera EI. 2010. Oligocene ferns from the Rancahué Formation (Aluminé, Neuquén, Argentina): *Cuyenopteris patagoniensis* nov. gen., nov. sp. (Polypodiales: Blechnaceae/Dryopteridaceae) and *Alsophilocalis calveloi* Menéndez emend. Vera (Cyatheaceae). *Geobios* 43: 465-478.
- Vicent M, Gabriel y Galán JM, Ainoüche A. 2014. Insight into fern evolution: a mechanistic approach to main concepts and study techniques. *Botanica Complutensis* 38: 7-24.
- Wada H, Kido T, Tanaka N, Murakami T, Saiki Y, Chen C. 1992. Chemical and chemataxonomical studies of ferns. LXXXI. Characteristic lignans of Blechnaceous ferns. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 40: 2099-2101.
- Wagner WHJ. 1986. The New World fern genus *Marginariopsis* (Polypodiaceae): an example of leaf dimorphism and coenosory in generic delimitation. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 113: 159-167.
- Wagner WHJ, Wagner FS. 1977. Fertile-sterile Leaf Dimorphism in Ferns. *Gardens' Bulletin, Singapore* XXX: 251-267.
- Wang Y. 1999. Fertile organs and *in situ* spores of *Marattia asiatica* (Kawasaki) Harris (Marattiales) from the Lower Jurassic Hsiangchi Formation in Hubei, China. *Review of Palaeobotany and Palynology* 107: 125-144.
- Watkins JE, Churchill AC, Holbrook NM. 2016. A site for sori: ecophysiology of fertile-sterile leaf dimorphism in ferns. *American Journal of Botany* 103: 845-855.
- Wilf P, Beard KC, Davies-Vollum KS, Norejko JW. 1998. Portrait of a Late Paleocene (Early Clarkforkian) terrestrial ecosystem: Big Multi Quarry and associated strata, Washakie Basin, Southwestern Wyoming. *Palaio* 13: 514-532.
- Wilson KA. 1959. Sporangia of the fern genera allied with *Polypodium* and *Vittaria*. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 185: 97-127.
- Wolf PG, Rowe CA, Sinclair RB, Hasebe M. 2003. Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from a leptosporangiate fern, *Adiantum capillus-veneris* L. *DNA Research* 10: 59-64.

- Wolf PG, Sessa EB, Marchant DB, Li F-W, Rothfels CJ, Sigel EM, Gitzendanner MA, Visger CJ, Banks JA, Soltis DE, Soltis PS, Pryer KM, Der JP. 2015. An exploration into fern genome space. *Genome Biology and Evolution* 7: 2533-2544.
- Yu Y, Harris AJ, He X. 2010. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): a tool for inferring biogeographic histories. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 848-850.
- Zhang L-B, Zhang L, Dong S-Y, Sessa EB, Gao X-F, Ebihara A. 2012. Molecular circumscription and major evolutionary lineages of the fern genus *Dryopteris* (Dryopteridaceae). *BMC Evolutionary Biology* 12.

ANEXO I. Relación de especies estudiadas molecularmente (estudios filogenéticos del género *Lomaridium* y del complejo *Parablechnum cordatum*), con el número de individuo (si procede), el pliego del cual se obtuvo el material biológico y el número de referencia de cada secuencia para cada marcador asignado por GenBank. El * indica secuencias obtenidas en otros trabajos.

<i>Especie</i>	Ind.	Pliego	rbcL	trnL-trnF	rps4-trnS
<i>Austroblechnum microphyllum</i> (Goldm.) Gasper & V.A.O.Dittrich		MACB 109253	-	JQ907377	KU892685
<i>Icarus filiformis</i> (A.Cunn.) Gasper & Salino		WELT P21179	KF975789 *	DQ683385 *	KF975745 *
<i>Lomaridium acutum</i> (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich	1	UC 1529253	KU892703	KU892709	KU892692
<i>Lomaridium acutum</i> (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich	2	UC 1597644	KU892706	KU892711	KU892683
<i>Lomaridium angustifolium</i> (Kunth) Vicent & Gabriel y Galán		MA 710846	KU892707	JQ907373	KU892687
<i>Lomaridium attenuatum</i> (Sw.) Gasper & V.A.O.Dittrich		BM 970239	KF992444 *	-	-
<i>Lomaridium biforme</i> (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich		Nakahira & Kato, sin pliego	AB040561 *	-	-
<i>Lomaridium binervatum</i> (Poir.) Gasper & V.A.O.Dittrich		UC 1869558	KU892699	JQ907368	KU892689
<i>Lomaridium contiguum</i> (Mett.) Gasper & V.A.O.Dittrich		WELT P026062	KF975784 *	KF975714 *	KF975740 *
<i>Lomaridium ensiforme</i> (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich	1	UC 1529319	KU892702	JQ907371	KU892695
<i>Lomaridium ensiforme</i> (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich	2	MACB 108711	KU892708	KU892710	KU892693
<i>Lomaridium fragile</i> (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich	1	MACB 108714	KU892704	JQ907372	KU892686
<i>Lomaridium fragile</i> (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich	2	MACB 108713	KU892697	KU892712	KU892688
<i>Lomaridium fuscusquamosum</i> (A.Rojas) Gasper & V.A.O.Dittrich	1	MACB 108712	KU892696	KM001898	KU892684

<i>Especie</i>	Ind.	Pliego	rbcL	trnL-trnF	rps4-trnS
<i>Lomaridium fuscusquamosum</i> (A.Rojas) Gasper & V.A.O.Dittrich	2	CR 240957	KU892701	KU892713	KU892694
<i>Lomaridium schottii</i> (Colla) Gasper & V.A.O.Dittrich		MA 723555	KU892698	KU892714	KU892691
<i>Lomaridium simillimum</i> (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich		Nakahira & Kato, sin pliego	AC040570 *	-	-
<i>Lomariocycas schomburgkii</i> (Klotzsch) Gasper & A.R.Sm.		MACB 109264	KY653943	JQ 907384	KY653956
<i>Parablechnum chilense</i> (Kaulf.) Gasper & Salino	2	MACB 109256	KY653944	KY653939	KY653953
<i>Parablechnum chilense</i> (Kaulf.) Gasper & Salino	1	MACB 109257	KY653945	KY653938	KY653952
<i>Parablechnum chilense</i> (Kaulf.) Gasper & Salino	4	MACB 109261	-	KY653937	KY653955
<i>Parablechnum chilense</i> (Kaulf.) Gasper & Salino	3	MACB 109261	-	KY653936	KY653954
<i>Parablechnum corbassonii</i> (Brownlie) Gasper & Salino		WELT P026057	KF975785 *	KF 975715 *	KF 978741 *
<i>Parablechnum cordatum</i> (Desv.) Gasper & Salino		FURB (Gasper 3051)	KU898648 *	KU 898702 *	KU 898589 *
<i>Parablechnum gregsonii</i> (Tindale) Gasper & Salino		MELU P112182	KJ170819 *	KJ 170846 *	KJ 170792 *
<i>Parablechnum loxense</i> (Kunth) Gasper & Salino		MACB 109263	KU892700	JQ907375	KU892682
<i>Parablechnum montanum</i> (T.C.Chambers & P.A.Farrant) Gasper & Salino		WELT P021189	KF975798 *	KJ 187000 *	KF 975754 *
<i>Parablechnum procerum</i> (G.Forst) C.Presl		WELT P021196	KF975810 *	DQ 683410 *	KF 975766 *
<i>Parablechnum schiedeanum</i> (Schltdl. ex C.Presl) Gasper & Salino	4	MACB 109258	KY653948	KY653942	KY653951
<i>Parablechnum schiedeanum</i> (Schltdl. ex C.Presl) Gasper & Salino	2	MACB 109259	KY653946	KY653940	KY653949

<i>Especie</i>	Ind.	Pliego	rbcL	trnL-trnF	rps4-trnS
<i>Parablechnum schiedeanum</i> (Schltdl. ex C.Presl) Gasper & Salino	3	MACB 09260	KY653947	KY653941	KY653950
<i>Parablechnum schiedeanum</i> (Schltdl. ex C.Presl) Gasper & Salino	1	BHCB (Salino 15700)	KU898655 *	KU 898709 *	KU 898596 *
<i>Parablechnum wattsii</i> (Tindale) Gasper & Salino		MELU P109830	KJ170826 *	KJ 170853 *	KJ 170799 *
<i>Struthiopteris spicant</i> (L.) F.W.Weiss		MACB 109254	-	JQ907386	-
<i>Woodwardia radicans</i> (L.) Sm.		MACB 109255	-	JQ907391	KU892690

ANEXO II. Relación del material estudiado, por orden alfabético de especies. Entre corchetes se indica si el material ha sido empleado para estudios anatómicos [A] y/o para estudios moleculares [M].

Anchistea virginica (L.) C.Presl. Canadá: Berthierville, comte de Berthier, rang Ste-Philomene, *P. Louis Maire & al.*, 1/7/1936, MA 186757 [A]. Estados Unidos: Deerfield, Connecticut River Road, *R.G. Poland*, 9/7/1954, MA 530913-1 [A]. Estados Unidos: Georgia, Worth Co. pr. Abram's Creek, sobre sustrato arenoso húmedo en el sotobosque, *C. Prada*, 5/9/1989, MA 504271-1 [A].

Austroblechnum microphyllum (Goldm.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Argentina: Neuquén, Parque de Lanín, Río Pulmari, Laguna Ñorquinco, Camino a Laguna Verde, *M. Rodríguez*, 17/12/2004, MACB 109253 [M].

Blechnopsis orientalis (L.) C.Presl. Malasia: Pahang, Fraser Hills, *A.G. Piggott*, 30/6/1981, MA 352908 [A].

Cranfillia opaca (Mett.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Nueva Caledonia: Mt.Moa, *I. Franc* 2049, 1/11/1908, UC 394309 [A]. Nueva Caledonia: Province du Sud, Mt. Dzumac, forest patches in scrub, 900 m, *van der Werff & McPherson* 16107, 14/11/1999, UC 1750393 [A]. Nueva Caledonia: Mt. Panie, 500 m, dense very wet forest, *D.R. Hodel* 1436, *G. Pierson & C. & J. Pierson*, 15/12/1995, UC 1606655 [A]. Nueva Caledonia: Summit du MontMoa, 1200 m, *Franc & Nouméa*, 1/1903, UC 393022 [A].

Doodia caudata (Cav.) R.Br. Portugal: Azores, Terceira, Erik Siögren *K12*, 30/6/1975, MA 521487 [A].

Icarus filiformis (A.Cunn.) Gasper & Salino. Nueva Zelanda: North Island, Coromandel Range, track to Kaitarakihi, *Perrie & Shepherd*, 21/12/2004, WELT P021179 [M].

Lomaria discolor (G.Forst.) Willd. Australia: Von, South Fippolan, Victoria, *L. French*, sin fecha, MA 213382 [A].

Lomaria nuda (Labill.) Willd. Australia: New South Wales, from Aardi Hostel to ?, *N.A. & C.B. Setzhell?*, 22/2/1927, UC 312378 [A]. Australia: Melbourne, *A.H.S. Lucas*, 1/1904, UC 417965 [A]. Australia: New South Wales, northern end of Mount Coree (15 miles west-south-west of Canberra), 1200 m, *E.F. Constable*, 3/5/1958, UC 1089862 [A]. Australia: North Queensland, Dalrymple Heights, and vicinity, *M.S. Clements*, 10-11/1947, UC 1089688 [A].

Lomaridium acutum (Desv.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Ecuador: Pastaza, Puyo, *A. & L. Fay* 3704, 19/7/1992, UC1597644 [M- Individuo 2]. Perú: Rioja, San Martín, *D.N. Smith* 4451, 29/7/1983, UC 1529253 [M- Individuo 1].

Lomaridium angustifolium (Kunth) Vicent & Gabriel y Galán. Argentina: Misiones, Dep. Guaraní, *S.G. Tressens & al.* 4630, 23/11/1993, MA 710846 [M].

Lomaridium attenuatum (Sw.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Reunión: Le Grand Étang, *S.Hennequin* R67, 2009, BM 970239 [M].

Lomaridium biforme (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich. Madagascar: *Nakahira & Kato* (sin datos de pliego) [M].

Lomaridium binervatum (Poir.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Puerto Rico: Adjuntas, Cordillera Central, *Christenhusz & Thomas* 3446, 4/4/2004, UC 1869558 [M].

Lomaridium contiguum (Mett.) Gasper & V.A.O.Dittrich. Nueva Caledonia: Grand Terre, Province Sud, north of Dumbéa, Monts Dzumac, *L. Perrie*, 26/9/2012, WELT P026062 [M].

***Lomaridium ensiforme* (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich.** Costa Rica: Cartago, Paraíso, Parque Nacional Tapantí – Sector Tapantí, sendero de árboles caídos desde estacionamientos y unos 500 m por el sendero, *A. Rojas & Gabriel y Galán 10428*, 15/7/2013, MACB 108711 [M- Individuo 2]. Panamá: Cerro Jefe, Cuadrante Sur, *Valdespino & Aranda 310*, 17/1/1987, UC 1529319 [M- Individuo 1].

***Lomaridium fragile* (Liebm.) Gasper & V.A.O.Dittrich.** Costa Rica: Puntarenas, San Vito, Estación Biológica Las Cruces, hacia el río Jaba, *Gabriel y Galán*, 14/1/2008, MACB 108714 [M- Individuo 1]. Costa Rica: Puntarenas, hacia la Reserva de Monteverde, epífita en tronco de helecho arborescente, *Gabriel y Galán*, 14/6/2013, MACB 108713 [M- Individuo 2].

***Lomaridium fuscusquamosum* (A.Rojas) Gasper & V.A.O.Dittrich.** Costa Rica: San José, Dota, carretera Interamericana km 72 ca. 1 km al Sur IyokAmi, orilla de la carretera, epífita sobre helecho arborescente, *A. Rojas & Gabriel y Galán 10422*, 15/7/2013, MACB 108712 [M- Individuo 1]. Costa Rica: San José, Dota, Copey, camino a Providencia, a 5 km del cruce con Ojo de Agua, 2900 m, *A. Rojas & Gómez 5877*, 24/8/2005, CR 240957 [M- Individuo 2].

***Lomaridium schottii* (Colla) Gasper & V.A.O.Dittrich.** Chile: Masatierra, Cerro Agudo, down into 4th quebrada from ridge on Villagra side, 620 m, vine on trunk of ferns. *Common, T.F.Stuessy & M. García 1162*, 13/2/1990, MA 723555 [M].

***Lomaridium simillimum* (Baker) Gasper & V.A.O.Dittrich.** Madagascar: *Nakahira & Kato* (sin datos de pliego) [M].

***Lomariocycas schomburgkii* (Klotzsch) Gasper & A.R.Sm.** Costa Rica: San José, Dota, *A. Rojas & Gabriel y Galán*, 15/7/2013, MACB 109264 [M].

***Lorinseria areolata* (L.) C.Presl.** Estados Unidos: Whatley, *R.G. Poland*, 15/9/1971, MA 530914 [A].

***Oceaniopteris cartilaginea* (Sw.) Gasper & Salino.** Australia: New South Wales, Newport, *M. Lindale*, 29/2/1948, UC 970697 [A]. Australia: New South Wales, Mount Wilson, below Cathedral of Ferns (Blue Mountains), 750 m, *E.F. Constable*, 9/4/1959, UC 1194891 [A]. Australia: New South Wales, Otford, *J.L.Boorman*, 6/1905, UC 156687 [A]. Australia: New South Wales, *Ballina*, 8/189?, UC 678337 [A].

***Oceaniopteris ciliata* (T.Moore) Gasper & Salino.** Nueva Caledonia: Mt. Koghi, *I. Franc*, 1/5/1911, UC 352563 [A]. Nueva Caledonia: trail to Plateau Dogny, moist forest, 400-600 m, *D.R. Hodel & C. Pierson, G & M Pierson, D & M Bianchi 1519*, 15/6/1996, UC 1613867 [A]. Nueva Caledonia: Foret Koghi, *Franc & Nouméa*, 5/1907, UC 392891 [A].

***Onoclea sensibilis* L.** Canadá: Cantón d'Orford, Jouvence, *N. Lesage*, 9/4/1973, MA 213982 [A]. Estados Unidos: Wisconsin, Oneida Co. Pr. Pelican Lake, en taludes muy húmedos, *Taylor & Prada*, 25/5/1989, MACB 32674 [A].

***Parablechnum chilense* (Kaulf.) Gasper & Salino.** Argentina: Neuquén, Parque Nacional Lanín, *Prada*, 30/11/2005, MACB 109261 [M- Individuos 3 y 4]. Chile: Región Bío-Bío, Concepción, Hualpén, *Gabriel y Galán*, 7/2014, MACB 109257 [M- Individuo 1]. Chile: Región de los Lagos, Osorno, Puyehue, *Gabriel y Galán*, 8/2014, MACB 109256 [M- Individuo 2].

***Parablechnum corbassonii* (Brownlie) Gasper & Salino.** Nueva Caledonia: Grand Terre, Province Sud, north of Dumbéa, Monts Dzumac, *L. Perrie*, 26/9/2012, WELT P026057 [M].

***Parablechnum cordatum* (Desv.) Gasper & Salino.** Brasil: *Gasper 3051* (FURB) [M].

***Parablechnum gregsonii* (Tindale) Gasper & Salino.** Australia: New South Wales, Blue Mountains N.P. on W side of Rodríguez Pass Track, 20 m S of junction with Pope Glen Track, *D.J. Ohlsen BB228*, 28/2/2002, MELU P112182 [M].

***Parablechnum loxense* (Kunth) Gasper & Salino.** Perú: La Convención, *Gabriel y Galán*, 29/4/2008, MACB 109263 [M].

***Parablechnum montanum* (T.C.Chambers & P.A.Farrant) Gasper & Salino.** Nueva Zelanda: North Island, Ruahine Ranges, Tamaki West area, Takapari track N of Travers Hut, just S of Junction with track to Standfield Hut / Tamaki River, *L. Perrie, L. Shephers & M. Shepherd* 3498, 26/12/2004, WELT P021189 [M].

***Parablechnum procerum* (G.Forst) C.Presl.** Nueva Zelanda: North Island, Coromandel Range, track to Kaitarakihi, *L. Perrie & M. Shepherd* 3127, 21/12/2004, WELT P021196 [M].

***Parablechnum schiedeana* (Schltdl. ex C.Presl) Gasper & Salino.** Costa Rica: De San José a Guapiles, *Gabriel y Galán*, 17/7/2013, MACB 109258 [M- Individuo 4]. Costa Rica: San José, Vázquez de Coronado, *A. Rojas & Gabriel y Galán*, 17/7/2013, MACB 109259 [M- Individuo 2]. Costa Rica: Guanacaste, *Gabriel y Galán*, 14/7/2013, MACB 109260 [M- Individuo 3]. Panamá: *Salino* 15700 (BHCB)[M- Individuo 1].

***Parablechnum wattsii* (Tindale) Gasper & Salino.** Australia: Queensland, Lamington National Park, O'Reilleys, Border Track, Wanungara Lookout, *Perrie & Ohlsen* BB127, 29/8/2010, MELU P109830 [M].

***Salpichlaena thalassica* Grayum & R.C.Moran.** Costa Rica: Cartago, Paraíso, *A. Rojas & Gabriel y Galán*, 15/7/2013, MACB 109262 [A].

***Stenochlaena tenuifolia* (Desv.) T.Moore.** Tanganika: Insel Mafia, Ras Mbisi, *H.J. Schlieben* 2625, 8/4/1932, MA 389238 [A].

***Struthiopteris spicant* (L.) F.W.Weiss.** Francia: Bretagne, Rennes, Montfort, *Gabriel y Galán & Puellas*, 10/2011, MACB 109254 [M].

***Woodwardia radicans* (L.) Sm.** España: Asturias, Valdés, Luarca, *Gabriel y Galán*, 24/4/2011, MACB 109255 [A y M]. España: Vizcaya, Lekeitio, *Gabriel y Galán*, 2/12/2014, MACB 107331 [A]. España: Cantabria, Lamiña, arroyo Moscadeiro, *C. Aedo*, 31/12/2004, MA 723139-1 [A]. España: Cantabria, Ampuero, Bernales, Arroyo Vallino, *J.J. Barredo*, 21/4/1996, MA 573123 [A].

ANEXO III. Caracteres y sus estados**A. Caracteres macroscópicos y anatómicos de la hoja fértil**

1. Diferenciación foliar. Descripción: diferenciación en forma y tamaño entre las hojas fértiles y las estériles.

- (0) Monomórficas: todas las hojas son trofosporófilas, o bien, si hay hojas fértiles y estériles, no son diferentes ni en tamaño ni en forma
- (1) Subdimórficas: pinnas de las hojas fértiles algo reducidas en comparación con las pinnas de las hojas estériles, pero que mantienen netamente una parte de tejido verde incluso en la madurez
- (2) Dimórficas: pinnas de las hojas fértiles fuertemente reducidas en comparación con las de las hojas estériles, y que no son verdes en la madurez

2. Perfil de la pinna. Descripción: perfil de la pinna fértil vista en sección transversal.

- (0) plana: los márgenes están alineados con la costa
- (1) curvada: la pinna se recurva de manera que los márgenes aparecen netamente desplazados en sentido abaxial con respecto a la costa.

3. Perfil adaxial de la costa. Descripción: perfil adaxial de la costa en sección transversal.

- (0) plano: la costa es aplanada o casi en su cara adaxial
- (1) surcado: la pinna presenta un surco en su cara adaxial

4. Perfil abaxial de la costa. Descripción: perfil abaxial de la costa vista en sección transversal.

- (0) plano: la costa es aplanada o casi en su cara abaxial
- (1) curvado: la costa es curvada en su cara abaxial
- (2) carinado: la costa tiene un perfil en V en su cara abaxial

5. Número de haces en la costa. Descripción: número de haces conductores en la costa de la pinna fértil.

- (0) 1-2
- (1) > 2

6. Forma del xilema de los haces costales. Descripción: forma que presenta el xilema en el interior del haz o haces de la costa.

- (0) en V: el xilema adopta forma de V o casi
- (1) recto: el xilema se dispone recto o casi

B. Caracteres del soro y la estructura indusial

7. Tipo de soro. Descripción: tipo de soro visto en sección longitudinal de la pinna.

- (0) discreto: los esporangios se disponen, asociados a venas, en grupos separados e individualizables, de longitud más o menos corta, a cada lado de la costa
- (1) continuo (cenosoro): los esporangios se disponen, asociados a una vena comisural, en grupos largos, a cada lado de la costa

8. Tipo de receptáculo. Descripción: forma del área esporangial vista en sección transversal de la pinna.

- (0) definido: los esporangios de cada soro surgen de una zona concreta recorrida por una vena
- (1) extendido: los esporangios de cada soro surgen a lo largo de una zona más o menos extensa, recorrida por varias venas
- (2) (pseudo)acrosticoide: los esporangios aparecen asociados a vena(s) en una zona más o menos definida, pero también surgen de la epidermis de zonas próximas sin venas, bien hacia la costa, bien hacia el margen de la pinna

9. Forma del receptáculo. Descripción: perfil del receptáculo visto en sección transversal.

- (0) plano: el receptáculo se dispone a ras de la epidermis o sobresale muy poco de la misma
- (1) convexo: el receptáculo sobresale netamente de la epidermis

10. Presencia y tipo de estructura con función indusial. Descripción: existencia y tipo de estructura protectora de los esporangios.

- (0) ausente: los esporangios aparecen desnudos
- (1) simple: los esporangios aparecen protegidos por una estructura que surge de la epidermis abaxial, y que está formada por una sola capa de células en la mayor parte de su sección transversal
- (2) compleja: los esporangios aparecen protegidos por una estructura que surge de la cara abaxial y que está formada por varias capas de células en la mayor parte de su sección transversal; con frecuencia, hay una clara diferenciación citológica, bien longitudinal, bien transversal

11. Modelo epidérmico del indusio. Descripción: forma de las paredes de las células del margen del indusio, tomando como tal las últimas 3-4 filas de células más externas.

- (0) poligonal: las células tienen paredes rectas
- (1) subpoligonal: las células presentan paredes muy levemente onduladas
- (2) sinuoso: las células presentan las paredes marcadamente sinuosas

C. Caracteres del esporangio

12. Número de células del anillo. Descripción: número de células del anillo del esporangio (observado al menos en 20 esporangios)

- (0) pocas: <18
- (1) medias: 18-25
- (2) muchas: >25

13. Longitud de las células de la roseta. Descripción: longitud de las células situadas inmediatamente por debajo del esporangio (y que son diferentes de las del resto del pedicelo).

- (0) cortas: células de la roseta más anchas que largas o casi
- (1) largas: células de la roseta manifiestamente más largas que anchas

D. Caracteres de la espora

14. Tipo esporal. Descripción: modelo de espora según la ornamentación del perisporio (observado al menos en 20 esporas).

- (0) Tipo I: espora lisa o muy escasamente ornamentada
- (1) Tipo II: espora rugada
- (2) Tipo III: espora con retículo bajo
- (3) Tipo IV: espora con retículo crestado, poligonal y con procesos filamentosos netos
- (4) Tipo V: espora con retículo crestado, poligonal y sin filamentos
- (5) Tipo VI: espora lisa con orbículos
- (6) Tipo VII: espora muriforme tuberculada

ANEXO IV. Matriz utilizada en el análisis cladístico de los caracteres morfológicos, en la que se muestra el estado asignado para cada carácter y cada especie. La matriz se presenta en dos tablas con 7 caracteres cada una, las especies ordenadas alfabéticamente.

	Diferenciación foliar	Perfil de la pinna	Perfil adaxial costa	Perfil abaxial costa	Nº haces costa	Forma xilema costa	Tipo de soro
<i>Anchistea virginica</i>	monomórficas	plana	surcado	plano	1 ó 2	recto	discreto
<i>Austroblechnum divergens</i>	dimórficas	curvada	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Austroblechnum lherminieri</i>	dimórficas	curvada	curvado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Austroblechnum microphyllum</i>	dimórficas	curvada	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Austroblechnum penna-marina</i>	dimórficas	curvada	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Blechnopsis orientalis</i>	monomórficas	plana	surcado	carinado	>2	recto	cenosoro
<i>Blechnum australe</i>	monomórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Blechnum levigatum</i>	monomórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Blechnum occidentale</i>	monomórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Cranfillia opaca</i>	dimórficas	plana	curvado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Cranfillia sampaioana</i>	dimórficas	curvada	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Cranfillia sprucei</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Doodia caudata</i>	subdimórficas	plana	curvado	curvado	1 ó 2	recto	discreto
<i>Lomaria discolor</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Lomaria nuda</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Lomaridium acutum</i>	dimórficas	plana	surcado	carinado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Lomaridium fragile</i>	dimórficas	plana	surcado	carinado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Lomariocycas moritziana</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Lomariocycas schomburgkii</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Lomariocycas tabularis</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Lorinseria areolata</i>	dimórficas	plana	surcado	plano	1 ó 2	recto	discreto
<i>Neoblechnum brasiliense</i>	monomórficas	plana	plano	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Oceaniopteris cartilaginea</i>	subdimórficas	plana	plano	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Oceaniopteris ciliata</i>	dimórficas	plana	plano	plano	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Onoclea sensibilis</i>	dimórficas	curvada	curvado	carinado	1 ó 2	recto	discreto
<i>Parablechnum cordatum</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Parablechnum loxense</i>	monomórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Parablechnum proliferum</i>	dimórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Salpichlaena thalassica</i>	subdimórficas	plana	surcado	curvado	>2	recto	cenosoro
<i>Stenochlaena tenuifolia</i>	dimórficas	curvada	surcado	curvado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Struthiopteris spicant</i>	dimórficas	plana	surcado	carinado	1 ó 2	recto	cenosoro
<i>Telmatoblechnum serrulatum</i>	monomórficas	plana	surcado	curvado	1 ó 2	en V	cenosoro
<i>Woodwardia radicans</i>	monomórficas	plana	surcado	plano	1 ó 2	en V	discreto

	Tipo de recept.	Forma del recept.	Estr. Func. Indus.	Modelo indusio	Cél anill	Cél. Roset	Tipo esp.
<i>Anchistea virginica</i>	definido	convexo	Simple	Poligonal	<18	cortas	V
<i>Austroblechnum divergens</i>	extendido	plano	Simple	Sinuoso	<18	largas	I
<i>Austroblechnum lherminieri</i>	extendido	plano	Simple	Sinuoso	<18	largas	I
<i>Austroblechnum microphyllum</i>	extendido	plano	Simple	Subpoligonal	<18	largas	I
<i>Austroblechnum penna-marina</i>	extendido	plano	Simple	Sinuoso	<18	largas	I
<i>Blechnopsis orientalis</i>	definido	plano	Compleja	Poligonal	18-25	cortas	V
<i>Blechnum australe</i>	definido	convexo	Simple	Subpoligonal	<18	largas	I
<i>Blechnum levigatum</i>	definido	convexo	Simple	Sinuoso	<18	largas	I
<i>Blechnum occidentale</i>	definido	convexo	Simple	Sinuoso	<18	largas	I
<i>Cranfillia opaca</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	<18	largas	V
<i>Cranfillia sampaioana</i>	definido	plano	Simple	Subpoligonal	<18	largas	III
<i>Cranfillia sprucei</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	<18	cortas	I
<i>Doodia caudata</i>	definido	plano	Simple	Poligonal	<18	cortas	I
<i>Lomaria discolor</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	18-25	cortas	V
<i>Lomaria nuda</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	18-25	cortas	V
<i>Lomaridium acutum</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	<18	cortas	III
<i>Lomaridium fragile</i>	extendido	plano	Compleja	Subpoligonal	18-25	cortas	III
<i>Lomariocycas moritziana</i>	definido	convexo	Compleja	Poligonal	18-25	largas	II
<i>Lomariocycas schomburgkii</i>	definido	convexo	Compleja	Poligonal	18-25	largas	II
<i>Lomariocycas tabularis</i>	definido	convexo	Compleja	Poligonal	18-25	cortas	II
<i>Lorinseria areolata</i>	definido	plano	Compleja	Poligonal	18-25	largas	V
<i>Neoblechnum brasiliense</i>	definido	convexo	Simple	Sinuoso	18-25	cortas	I
<i>Oceaniopteris cartilaginea</i>	definido	plano	Simple	Subpoligonal	<18	cortas	V
<i>Oceaniopteris ciliata</i>	definido	convexo	Compleja	Poligonal	18-25	cortas	I
<i>Onoclea sensibilis</i>	definido	alargado	Simple	Poligonal	18-25	largas	V
<i>Parablechnum cordatum</i>	extendido	plano	Compleja	Subpoligonal	<18	cortas	IV
<i>Parablechnum loxense</i>	extendido	plano	Compleja	Subpoligonal	18-25	largas	IV
<i>Parablechnum proliferum</i>	extendido	plano	Compleja	Poligonal	>25	cortas	V
<i>Salpichlaena thalassica</i>	definido	convexo	Compleja	Poligonal	>25	cortas	VI
<i>Stenochlaena tenuifolia</i>	definido	plano	Ausente	-	<18	largas	VII
<i>Struthiopteris spicant</i>	definido	plano	Compleja	Poligonal	<18	cortas	II
<i>Telmatoblechnum serrulatum</i>	definido	convexo	Simple	Poligonal	18-25	cortas	VI
<i>Woodwardia radicans</i>	definido	plano	Simple	Poligonal	18-25	cortas	V